14(3) 111-118, Autumn 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The effect of bacteriophages against avian pathogenic *Escherichia coli* on productive performance, carcass characteristics and certain blood parameters in broiler chicken

Farshid Rahmatei, Heshmatollah Khosravinia*, Babak Masourei, Maryam Mirderikvandei

Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Key Words

Broiler chicken
Escherichia coli
Bacteriophage
Productive performance
Liver
Carcass

Abstract

Introduction: This study aimed to investigate the effect of anti-Escherichia coli bacteriophages on production performance, carcass characteristics and some blood parameters in broiler chickens.

Materials & Methods: A total number of 168 one-day-old Ross 308 chicks were used to examine the effects of 7 experimental treatments in 4 replicates of 10 birds each. Experimental treatments include oral inoculation of 1 ml of bacteriophage TMU1, TMU2, and their mixtures, intramuscular injection of 1 ml of bacteriophage TMU1, intramuscular injection of 0.5 ml of bacteriophage TMU2, intramuscular injection of 0.5 ml of a mixture of bacteriophages TMU1 and TMU1. The control group received oral gavageing and injection of culture medium without bacteriophage.

Results: Serum calcium concentration were higher in the birds injected with TMU1 bacteriophage and mixed bacteriophages. Serum concentration of free fatty acids was greater in the birds receiving TMU1 bacteriophage than those injected with TMU2 bacteriophage. The mean concentration of high-density lipoproteins was elevated in in the birds injected with the mixture of bacteriophages compared with those fed with the same treatment. Hepatic aspartate aminotransferase activity was 23.90% lower in the chickens injected with TMU2 bacteriophage than control birds.

Conclusion: It was concluded that oral inoculation and intramuscular injection of pathogenic anti-*Escherichia coli* bacteriophages into healthy birds exhibited no effect on growth performance and carcass components percentage. However, it may provide certain benefits towards birds health indicated by reduced liver enzymes activity.

* Corresponding Author's email: khosravi_fafa@yahoo.com
Received: 22 May 2021; Reviewed: 26 June 2021; Revised: 31 August 2021; Accepted: 2 October 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.300228.2614

مقاله پژوهشی

تاثیر باکتریوفاژهای ضداشریشیا کلی بیماری‌زای پرندگان بر عملکرد تولیدی، خصوصیات لاشه و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی

فرشید رحمتی، حشمت‌الله خسروی‌نیا**، بابک ماسوری، مریم میردریکوندی

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

کلمات کلیدی

جوجه گوشتی
باکتریوفاژ
اشریشیا کلی
عملکرد تولیدی
کبد
لاشه

چکیده

مقدمه: این آزمایش به‌منظور بررسی تاثیر باکتریوفاژهای ضداشریشیا کلی بر عملکرد تولیدی، خصوصیات لاشه و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی اجرا شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه با استفاده از ۱٦۸ قطعه جوجه یک‌روزه سویه راس برای بررسی تاثیر هفت تیمار در شش تکرار و هر تکرار شامل چهار قطعه جوجه اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل تلقیح دهانی یک میلی‌لیتر از باکتریوفاژ TMU1، TMU2 و مخلوط آن‌ها، تزریق عضلانی یک میلی‌لیتر از باکتریوفاژ TMU1، تزریق عضلانی ۰/۵ میلی‌لیتر باکتریوفاژ TMU2، تزریق عضلانی ۰/۵ میلی لیتر مخلوط باکتریوفاژها TMU1 و TMU2 و گروه شاهد دریافت کننده گاواژ و تزریق محیط کشت بدون باکتریوفاژ بود.

نتایج: غلظت کلسیم سرم خون در جوجه‌های تزریق شده با باکتریوفاژ TMU1 و مخلوط باکتریوفاژها بیش‌تر از جوجه‌های گاواژ شده با مخلوط باکتریوفاژ بود. میانگین غلظت اسیدهای چرب آزاد در خون جوجه‌های گاواژ شده با باکتریوفاژ TMU1 بیش‌تر از جوجه‌های تزریق شده با باکتریوفاژ TMU2 بود. میانگین غلظت لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا، در جوجه‌های تزریق شده با مخلوط دو نوع باکتریوفاژ بیش‌تر از جوجه‌های تغذیه شده با گاواژ مخلوط باکتریوفاژها بود. فعالیت آنزیم کبدی آسپارتات آمینو ترانسفراز در جوجه‌های تزریق شده با باکتریوفاژ TMU2 ۲۳/۹۰ درصد کم‌تر از پرندگان شاهد بود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتیجه‌گیری شد که تلقیح دهانی و تزریق عضلانی باکتریوفاژهای ضداشریشیا کلی بیماری‌زا به پرنده سالم تاثیری بر عملکرد رشد و وزن اجزای لاشه جوجه گوشتی نداشت ولی برخی فراسنجه‌های خون را احتمالاً در راستای سلامت پرنده تغییر داد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: khosravi_fafa@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱ خرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۵ تیر ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۹ شهریور ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۰ مهر ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.300228.2614

مقدمه

کلی‌فرم‌ها، به‌ویژه اشرشیاکلی یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده گاستروانتریت و شاخص میکروبی آلودگی آب و موادغذایی محسوب می‌گردندو وجودآن‌ها در آب آشامیدنی و موادغذایی نشانگر آلودگی این مواد به سایر پاتوژن‌های روده‌ای است (۱). مطالبه جدی مصرف کنندگان برای عرضه فرآورده‌های عاری از این پاتوژن‌های غذازاد و پسماند آنتی‌بیوتیک، منجر به و توجه سازمان‌های بهداشتی و به تبع آن پیشرفت و توسعه روش‌های جایگزین تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها ازجمله فاژ درمانی در پرورش طیور شده است (۲،۳). باکتریوفاژهاویروس‌های اختصاصی هستند که تنها نوع خاصی از باکتری‌ها را از بین می‌برند و بر روی سلول‌های یوکاریوت اثری ندارد. به‌عبارت دیگر، هر فاژ دارای لیگاندهای خاصی است که به آن‌ها اجازه می‌دهد به آنتی‌ژن اختصاصی یک باکتری متصل شود ولی این رسپتور آنتی‌ژن سایر باکتری‌ها و سلول‌های یوکاریوتی را شناسایی نمی‌کند (۴). علاوه بر این، فاژها می‌توانند در محل عفونت تکثیر پیدا کنند و به نسبت باکتری‌ها افزایش یابند. بنابراین همانند آنتی‌بیوتیک نیاز به تنظیم دوز و زمان مصرف ندارد (۵). استفاده‌از فاژدرمانی‌دارای‌حداقل اثرات جانبی است. فاژها به‌ندرت آلرژی‌زا هستند، هرچند تعدادی از پروتئین‌های ضدویروس موجوددر بدن‌می‌توانند فاژها را خنثی کنند (۶). هم‌چنین با استفاده از روش‌های مختلف می‌توان فاژها را به محل عفونت رساند. فاژها در ترکیب با دیگر مواد ضدباکتریایی قابل استفاده می‌باشند. تولید و توسعه فاژهای جدید علیه باکتری‌های مقاوم به فاژ آسان، ارزان و سریع است (۶). علی‌رغم ویژگی‌های بسیار زیاد فاژها، کاربرد بیولوژیک و ضدباکتریایی فاژها با چالش‌ها و مشکلاتی نیز همراه است. دامنه میزبانی آن‌ها بسیار محدود است و جداسازی فاژ اختصاصی بر علیه پاتوژن اختصاصی ممکن است بر باکتری غیربیماری‌زا اثرگذار باشد (۷). اثرات درمانی استفاده از فاژها علیه باکتری‌های کپسول دار و باکتری‌های درون سلولی و بیوفیلم‌ها مشخص نشده است. ترشح یا آزادسازی ترکیبات متعدد التهابی مانند اندوتوکسین‌ها و پپتیدوگلیکان‌ها در نتیجه لیز کردن باکتری‌ها نیز می‌تواند یکی از مشکلات استفاده از فاژها، در درمان بیماری‌ها باشد (۶). از نکات بسیار مهم در استفاده از باکتریوفاژها، عدم باقی‌مانده آن‌ها در تولیدات طیور است. این مزیت آن‌ها را به‌عنوان گزینه مهمی برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در مقابله با باکتری‌های بیماری‌زای طیور ازجمله سالمونلا، کمپیلوباکتر و اشرشیاکلی جلوه می‌دهد (۸). کاهش جمعیت باکتری اشریشیاکلی در غذا، آب آشامیدنی و هم‌چنین محیط روده پرندگان برای کاهش عفونت‌های ناشی از آن در طیور مهم است. به‌لحاظ تئوری، باکتریوفاژها می‌توانند به‌عنوان یک گزینه موثر، فاقدتبعات زیست‌محیطی و پسماند غذایی، در یک برنامه جامع مدیریت بهداشتی برای کاهش جمعیت این باکتری استفاده شوند. با توجه به مزایای استفاده از باکتریوفاژها، این آزمایش با هدف بررسی تاثیر استفاده از باکتریوفاژهای ضداشریشیا کلی بیماری‌زای پرندگان بر عملکردتولیدی و وزن اجزای لاشه و برخی فراسنجه‌های خون در جوجه‌های گوشتی سالم و پرورش یافته تحت شرایط مدیریت بهینه اجرا شد.

مواد و روش‌ها

پرنده، جیره و پرورش: تعداد ۱۶۸ قطعه جوجه یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ به‌طور تصادفی به ۴۲ گروه چهار قطعه‌ای تقسیم شد و پس از توزین در ۴۲ پن پرورش یافتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار، هر تیمار شامل شش تکرار و هر تکرار مشتمل بر چهار قطعه جوجه اجرا گردید. در طی آزمایش دسترسی به آب آزاد و مصرف خوراک برای تمام جوجه‌ها تا حد اشتها بود. ترکیب جیره‌های تغذیه شده در سنین مختلف در جدول ۱ ارایه شده است. دمای سالن در روز اول پرورش ۳۳ درجه سانتی‌گراد و هر هفته سه درجه کاهش داده شد تا به ۲۴ تا ۲۵ درجه رسید. پس از آن،دمای محیط تا انتهای دوره پرورش ثابت ماند. در طی آزمایش برنامه‌نوری ۲۳ ساعت روشنایی و یک‌ساعت خاموشی برای جوجه‌ها فراهم شد. تیمارهای آزمایشی از روز سه تا روز ۲۷ دوره آزمایش براساس جدول ۲ مورد استفاده قرار گرفت.

متغیرهای مورد اندازه‌گیری: در سنین ۳ و ۳۵ روزگی رکوردهای‌وزن‌زنده پرندگان به‌صورت انفرادی (با ترازوی الکترونیکی و دقت یک گرم) ثبت شد و برای محاسبه افزایش وزن روزانه مورد استفاده گرفت. میزان افزایش وزن با کم کردن میانگین وزن در اول دوره از وزن در آخر همان دوره محاسبه شد. خوراک مصرفی هر پن با کم کردن میزان خوراک باقی‌مانده در دانخوری هرقفس از مجموع خوراک‌ریخته‌شده در طی آزمایش محاسبه شد. برای توزین خوراک از ترازوی الکترونیکی با دقت یک گرم استفاده گردید. ضریب تبدیل خوراک برای دوره سنی ۳ تا ۳۵ روزگی با تقسیم نمودن میزان خوراک مصرفی بر میانگین افزایش وزن جوجه‌های موجود در هر پن محاسبه شد. با توزین پرندگان تلف شده در هر پن، تصحیح مصرف خوراک برای هر تکرار انجام شد. برای تعیین شاخص کارایی تولید از رابطه زیر استفاده شد:

$$\text{شاخص کارایی تولید} = \frac{\text{میانگین وزن بدن (کیلوگرم)} \times \text{درصد ماندگاری}}{\text{ضریب تبدیل} \times \text{طول دوره (روز)}} \times 100$$

جدول ۱: اجزا و ترکیبات مواد مغذی جیره‌های غذایی پایه

	پیش آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)	آغازین (۱۱ تا ۲۰ روزگی)	رشد (۲۱ تا ۳۱ روزگی)	پایانی (۳۲ تا ۴۰ روزگی)
اجزا جیره غذایی (درصد)				
ذرت	۵۵/۹۷	۶۰/۹۷	۶۴/۷۷	۶۹/۱۲
کنجاله سویا	۳۹/۰۰	۳۴/۰۰	۳۰/۰۰	۲۶/۰۰
پوسته صدف	۱/۲۰	۱/۱۰	۱/۱۰	۱/۰۰
دی کلسیم فسفات	۱/۳۲	۱/۰۹	۰/۹۴	۰/۷۸
روغن سویا	۰/۸۰	۱/۰۰	۱/۲۰	۱/۴۰
نمک	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۰۸
پیش مخلوط ویتامینی*	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
پیش مخلوط مواد معدنی**	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
بی‌کربنات سدیم	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰
متیونین + سیستین	۰/۲۲	۰/۲۰	۰/۱۸	۰/۱۷
DL- متیونین	۰/۲۱	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۱۶
L- لایزین	۰/۱۸	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۱۴
L- ترئونین	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۵
ترکیبات مواد مغذی (محاسبه‌شده)				
انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلو کالری در کیلوگرم)	۲۹۱۰	۲۹۷۵	۳۰۳۰	۳۰۹۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۴۵	۲۰/۶۰	۱۹/۱۵	۱۷/۷۵
چربی خام (درصد)	۳/۵۴	۴/۰۹	۴/۲۰	۴/۲۸
فیبر خام (درصد)	۲/۷۸	۲/۵۹	۲/۵۶	۲/۵۶
کلسیم (درصد)	۰/۹۶	۰/۸۷	۰/۷۸	۰/۷۵
فسفر قابل‌دسترس (درصد)	۰/۴۸	۰/۴۴	۰/۳۹	۰/۳۸
متیونین + سیستین (درصد)	۱/۰۸	۰/۹۹	۰/۹۰	۰/۸۵

*هر کیلوگرم حاوی ۴۴۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۶۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۲۸ میلی‌گرم ویتامین K، ۷۴ میلی‌گرم تیامین، ۲۶۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۴۹۰ میلی‌گرم نیاسین، ۱۶۰۰ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۰ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۶۰ میلیگرم اسیدفولیک، ۰/۶ میلی‌گرم کوبالامین، ۴ میلی‌گرم بیوتین، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ** ۴۸۰۰ هر کیلوگرم حاوی میلی‌گرم منگنز، ۴۴۰۰ میلی‌گرم روی، ۶۵۰ میلی‌گرم مس، ۱۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۴۸ میلی‌گرم ید و ۲۰۰۰ میلی‌گرم آهن.

در روز ۳۵ آزمایش، یک قطعه جوجه با میانگین وزنی نزدیک به میانگین گروه خود انتخاب، ذبح و مورد تجزیه لاشه قرار گرفت. صفات مورد اندازه‌گیری شامل وزن لاشه آماده طبخ، وزن سینه، وزن ران، وزن قلب، سنگدان و کبد بود. تمام اجزا مورد اندازه‌گیری بر حسب درصد وزن زنده بیان شد. در سن ۳۵ روزگی، از هر تکرار یک قطعه جوجه انتخاب و برای اخذ نمونه خون از ورید براکیال مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های خون به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از سانتریفیوژ (به‌مدت ۱۰ دقیقه و سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه) سرم آن‌ها جدا و تا زمان سنجش فاکتورهای مورد نظر در دمای ۲۰- نگه‌داری شد. با استفاده از این نمونه‌ها، فعالیت آنزیم‌های کبدی آلانین‌آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز و غلظت اسیدهای چرب آزاد (NEFA)، تری‌گلیسرید، کلسترول تام، لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)، کلسیم، فسفر، سدیم و پتاسیم با استفاده از روش آنزیمی و با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری: داده‌های جمع‌آوری شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز شد(۹) و مقایسات میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن، انجام شد.

نتایج

تأثیر تلقیح دهانی باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره ۳ تا ۳۵ روزگی در جدول ۳ نشان داده شده است. در دوره آغازین و رشد، افزایش وزن، ضریب تبدیل، مصرف خوراک و شاخص کارایی تولید تحت تاثیر تزریق و تلقیح دهانی باکتریوفاژ قرار نگرفت (P>۰/۰۵). میانگین درصد اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی دریافت کننده تلقیح دهانی باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن برحسب وزن زنده در جدول ۴ آورده‌شده است. تلقیح دهانی باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن اثر معنی‌داری بر لاشه آماده طبخ، اجزای لاشه شامل درصد سینه و درصد ران جوجه‌های گوشتی نداشت (P>۰/۰۵). میانگین وزن نسبی اندام‌های داخلی (برحسب وزن زنده) جوجه‌های گوشتی مصرف‌کننده و تزریق شده با باکتریوفاژها در جدول ۵ ارائه شده است. وزن نسبی کبد و قلب تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵).وزن نسبی سنگدان به‌طور معنی‌داری، در جوجه‌های شاهد، تزریق شده با باکتریوفاژ TMU2 بیش‌تر از جوجه‌های گاواژ شده با باکتریوفاژ TMU2 بود (P<۰/۰۵). میانگین غلظت فراسنجه‌های چربی سرم جوجه‌های گوشتی در جدول ۶ نشان داده شده است. میانگین غلظت اسیدهای چرب آزاد (NEFA) به‌طور معنی‌داری، در جوجه‌های گاواژ شده با باکتریوفاژی TMU1 بیش‌تر از جوجه‌های تزریق شده با باکتریوفاژ TMU2 بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین شیوه تجویز (تزریق یا خوراندن) باکتریوفاژ بر میانگین غلظت HDL تاثیر معنی‌داری داشت. تزریق مخلوط باکتریوفاژ غلظت HDL را در مقایسه با خوراندن آن، افزایش داد (P<۰/۰۵). تیمارهای آزمایشی تاثیری بر میانگین غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL در سرم جوجه‌های

گوشتی تحت مطالعه نداشتند (P>۰/۰۵). تأثیر تلقیح دهانی باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن بر میانگین غلظت خاکستر سرم در جوجه‌های گوشتی در جدول ۷ ارائه شده است. تیمارهای آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر میانگین غلظت سدیم سرم نداشتند (P>۰/۰۵). غلظت کلسیم سرم در جوجه‌های تزریق شده با باکتریوفاژ TMU1 و مخلوط باکتریوفاژها ۲۶/۹۲ درصد بیش‌تر از جوجه‌های گاواژ شده با مخلوط باکتروفاژ بود (P<۰/۰۵). روش تجویز باکتریوفاژ TMU1 تاثیر معنی‌داری بر غلظت فسفر سرم خون داشت به‌طوری‌که در جوجه‌های گاواژ شده ۳۲/۳۱ درصد بیش‌تر از جوجه‌های تزریق شده با این باکتروفاژ بود (P<۰/۰۵). در جوجه‌های گاواژ شده با باکتریوفاژ TMU2 غلظت فسفر خون، ۳۲/۶۳ درصد بیش‌تر از جوجه‌های تزریق شده با باکتریوفاژ TMU1 بود (P<۰/۰۵). فعالیت آنزیم کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز در جوجه‌های تزریق شده با باکتریوفاژ TMU2، ۲۳/۹۰ درصد کم‌تر از پرندگان شاهد بود (P<۰/۰۵). تلقیح دهانی باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن تاثیر معنی‌داری بر میانگین فعالیت آنزیم کبدی آلانین آمینوترانسفراز سرم در جوجه‌های گوشتی نداشت (جدول ۸، P>۰/۰۵).

جدول ۲: تیمارهای آزمایشی زمان و روش استفاده از آن‌ها در پرندگان مورد آزمایش از سن ۳ تا ۲۸ روزگی

تیمار	روش استفاده	باکتریوفاژ	روز ۳	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۲۸
۱	تلقیح دهانی	TMU1	۰/۵ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر
۲	تلقیح دهانی	TMU2	۰/۵ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر
۳	تلقیح دهانی	TMU1/TMU2	۰/۵ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر
۴	تزریق عضلانی	TMU1	۰/۲ میلی‌لیتر	۰/۲ میلی‌لیتر	۰/۵ میلی‌لیتر	۰/۵ میلی‌لیتر	۰/۵ میلی‌لیتر
۵	تزریق عضلانی	TMU2	۰/۲ میلی‌لیتر	۰/۲ میلی‌لیتر	۰/۵ میلی-لیتر	۰/۵ میلی‌لیتر	۰/۵ میلی‌لیتر
۶	تزریق عضلانی	TMU1/TMU2	۰/۲ میلی لیتر	۰/۲ میلی لیتر	۰/۵ میلی لیتر	۰/۵ میلی لیتر	۰/۵ میلی لیتر
۷	تلقیح دهانی/ تزریق عضلانی	شاهد[1]	۰/۵میلی‌لیتر / ۰/۲ میلی‌لیتر	۱میلی‌لیتر/۰/۲ میلی‌لیتر	۱میلی‌لیتر/۰/۵ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر/ ۰/۵ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر/۰/۵ میلی‌لیتر

[1] گروه شاهد دریافت‌کننده گاواژ و تزریق محیط کشت بدون باکتریوفاژ بود.

جدول ۳: عملکرد تولیدی و شاخص کارایی تولید جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر تلقیح دهانی باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن در دوره ۳ تا ۳۵ روزگی

تیمارها	افزایش وزن (گرم در روز)	خوراک مصرفی (گرم در روز)	ضریب تبدیل خوراک	شاخص کارایی تولید (واحد)
شاهد	۵۰/۳۸	۷۷/۵۳	۱/۵۴	۳۱۷/۲۹
۱	۵۰/۲۲	۷۸/۱۰	۱/۵۶	۲۹۸/۸۰
۲	۵۱/۷۷	۷۸/۱۷	۱/۵۱	۳۴۳/۴۱
۳	۵۱/۵۲	۷۸/۷۲	۱/۵۳	۳۳۷/۵۷
۴	۵۰/۰۵	۷۸/۶۰	۱/۵۷	۳۰۷/۰۸
۵	۵۲/۴۲	۷۹/۰۲	۱/۵۱	۳۰۴/۸۳
۶	۵۱/۱۷	۸۰/۴۹	۱/۵۷	۳۲۵/۶۰
خطای معیار میانگین	۱/۵۵	۲/۴۰	۰/۰۲	۱۹/۴۵
سطح معنی‌داری	۰/۸۹۵۳	۰/۹۸۵۶	۰/۱۵۹۳	۰/۶۰۲۶

جدول ۴: میانگین درصد اجزای لاشه (برحسب درصد وزن زنده) جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر تلقیح دهانی باکتریوفاژها و تزریق عضلانی آن در روز ۳۵ دوره پرورش

تیمارها	لاشه (درصد)	سینه (درصد)	ران (درصد)
شاهد	۸۶/۵۷	۲۹/۱۲	۱۹/۷۰
۱	۷۴/۵۵	۲۸/۰۵	۱۸/۷۸
۲	۷۵/۱۷	۲۹/۲۲	۱۸/۵۱
۳	۷۵/۶۲	۲۸/۹۴	۱۸/۹۷
۴	۷۴/۹۳	۲۸/۲۵	۱۹/۲۱
۵	۷۵/۷۶	۲۸/۲۵	۱۹/۳۱
۶	۷۵/۷۰	۲۹/۰۱	۱۸/۷۳
خطای معیار میانگین	۰/۹۲	۰/۷۱	۰/۴۴
سطح معنی‌داری	۰/۷۹۳۸	۰/۸۲۱۳	۰/۵۵۲۷

جدول ۵: میانگین وزن نسبی اندام‌های داخلی در جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر تلقیح دهانی باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن در سن ۳۵ روزگی

تیمارها	کبد	سنگدان	قلب
شاهد	۲/۵۴	۲/۱۵^{a}	۰/۵۶
۱	۲/۷۶	۱/۷۹^{ab}	۰/۶۴
۲	۲/۸۰	۱/۶۵^{b}	۰/۵۸
۳	۲/۷۲	۱/۷۷^{ab}	۰/۵۶
۴	۲/۵۰	۱/۷۸^{ab}	۰/۵۱
۵	۲/۵۵	۲/۰۸^{a}	۰/۵۲
۶	۲/۴۷	۲/۱۶^{a}	۰/۵۴
خطای معیار میانگین	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۰۳
سطح معنی‌داری	۰/۰۹۰۷	۰/۰۱۸۸	۰/۰۹۷۳

^{ab} در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف نامشابه دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگرهستند (P<۰/۰۵).

جدول ۶: تأثیر تلقیح دهانی (گاواژ) باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن بر میانگین غلظت فراسنجه‌های چربی سرم خونی جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی

تیمارها	اسیدهای چرب آزاد (میلی‌مول در لیتر)	کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	HDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	LDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
شاهد	۱/۳۵^{ab}	۱۷۹/۸۳	۱۳۵/۵۰	۶۳/۰۰^{ab}	۸۹/۷۳
۱	۱/۸۶^{a}	۱۶۵/۶۷	۱۴۶/۰۰	۵۵/۶۶^{ab}	۱۰۱/۱۰
۲	۱/۲۶^{ab}	۱۷۳/۰۰	۹۷/۶۶	۶۱/۶۶^{ab}	۹۱/۸۰
۳	۱/۴۱^{ab}	۱۴۸/۸۳	۱۲۲/۰۰	۴۸/۰۰^{b}	۷۹/۴۳
۴	۱/۱۹^{ab}	۱۶۵/۵۰	۱۰۰/۱۷	۵۸/۰۰^{ab}	۸۷/۴۶
۵	۰/۸۱^{b}	۱۵۳/۱۰	۱۱۵/۸۳	۷۰/۰۰^{ab}	۸۳/۹۳
۶	۱/۰۰^{b}	۱۹۹/۳۳	۱۲۸/۰۰	۷۶/۰۰^{a}	۹۷/۷۳
خطای معیار میانگین	۰/۱۵	۱۷/۰۴	۱۶/۶۴	۵/۸۱	۹/۳۱
سطح معنی‌داری	۰/۰۰۱۶	۰/۳۹۹۵	۰/۳۱۶۴	۰/۰۴۲۳	۰/۵۸۱۷

^{ab} در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف نامشابه دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگرهستند (P<۰/۰۵).

جدول ۷: تأثیر تلقیح دهانی (گاواژ) باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن بر میانگین غلظت فراسنجه‌های معدنی سرم خونی جوجه های گوشتی

تیمارها	کلسیم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	فسفر (میلی‌گرم در دسی لیتر)	سدیم (میلی‌اکیوالان در لیتر)	پتاسیم (میلی‌اکیوالان در لیتر)
شاهد	۵/۵۵^{ab}	۷/۵۳^{ab}	۱۵۴/۴۰	۷/۰۱^{ab}
۱	۵/۹۸^{ab}	۷/۸۳^{a}	۱۵۱/۶۵	۶/۶۶^{ab}
۲	۵/۹۵^{ab}	۶/۴۶^{ab}	۱۵۷/۰۵	۷/۱۷^{a}
۳	۵/۲۱^{b}	۶/۳۰^{ab}	۱۴۰/۵۷	۵/۸۵^{ab}
۴	۵/۸۰^{ab}	۵/۳۰^{b}	۱۵۱/۳۸	۴/۸۳^{b}
۵	۷/۱۳^{a}	۶/۲۳^{ab}	۱۶۱/۸۸	۵/۴۱^{ab}
۶	۷/۱۳^{a}	۶/۱۰^{ab}	۱۷۵/۶۰	۵/۴۰^{ab}
خطای معیار میانگین	۰/۴۵	۰/۵۶	۷/۷۸	۰/۴۹
سطح معنی‌داری	۰/۰۱۲۸	۰/۰۴۰۳	۰/۱۰۸۳	۰/۰۱۰۹

^{ab} در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف نامشابه دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگرهستند (P<۰/۰۵).

جدول ۸: تأثیر تلقیح دهانی باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن بر میانگین غلظت آنزیم‌های کبدی سرم خونی جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی

تیمارها	آسپارتات آمینو ترانسفراز (واحد در دسی‌لیتر)	آلانین آمینو ترانسفراز (واحد در دسی‌لیتر)
شاهد	۳۷۳/۶۷[a]	۸/۵۰
۱	۳۶۱/۰۰[ab]	۱۲/۱۶
۲	۳۳۱/۵۰[ab]	۹/۶۶
۳	۳۲۱/۶۷[ab]	۹/۵۰
۴	۳۲۸/۰۰[ab]	۹/۱۶
۵	۲۸۴/۳۳[b]	۱۰/۵۰
۶	۲۹۴/۶۷[ab]	۸/۰۰
خطای معیار میانگین	۲۱/۵۳	۱/۴۲
سطح معنی‌داری	۰/۰۳۰۸	۰/۴۱۷۸

[ab] در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف نامشابه دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر هستند (P<۰/۰۵).

بحث

در مطالعه حاضر، اثر تجویز دو نوع باکتریوفاژ اختصاصی ضد اشریشیا کلی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در شرایط طبیعی فیزیولوژیکی (بدون چالش تجربی با اشریشیا کلی) بررسی شد. عدم تغییر میانگین افزایش وزن، ضریب تبدیل، مصرف خوراک و شاخص کارایی تولید جوجه گوشتی با و بدون دریافت فاژ با برخی از یافته‌های Wang و همکاران (۱۰) و Huff و همکاران (۱) هم‌خوانی داشت. Wang و همکاران بهبود راندمان تبدیل خوراک جوجه‌های دریافت کننده باکتریوفاژ را در مرحله شروع فاژدرمانی (از یک تا ۱۴ روزگی) گزارش نمودند ولی با افزایش سن جوجه‌ها این اثر کاهش یافت. بدیهی است که، جوجه‌های جوان بیش‌تر در معرض عوامل بیماری‌زا هستند و نسبت به مواد ضدمیکروبی در جیره و آب بهتر پاسخ می‌دهند (۱۰). در مطالعات متعدد نشان داده شده است که فاژ درمانی روند کاهش سرعت رشد جوجه متاثر از عفونت باکتریایی را تعدیل نموده و مرگ و میر جوجه‌های دارای عفونت‌های شدید تنفسی ناشی از اشریشیاکلی را کاهش می‌دهد (۷، ۱۱، ۱۲، ۱۳). اما تجویز باکتریوفاژ بدون چالش با عامل بیماری‌زا، جوجه‌های جوان پرورش یافته در سالن‌های تجاری را قادر می‌سازد تا بر بروز اثرات تحت بالینی عوامل بیماری‌زای بالقوه مانع رشد خود غلبه کنند. استفاده از محلول حاوی باکتریوفاژ برای جوجه‌های سالم پرورش یافته در محیط بهینه، بی‌خطر است زیرا تفاوت معنی‌داری در مرگ و میر، افزایش وزن و مصرف خوراک در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد. علاوه بر این، در جوجه‌هایی که مخلوط فاژها را دریافت نمودند، همگنی وزن گله و یکنواختی رشد بیش‌تر بود. با این وجود، برخی مطالعات تأثیر مثبت فاژها بر عملکرد رشد جوجه‌های سالم را تایید نموده است (۷، ۱۴). این تفاوت‌ها ممکن است به بهبود اندک در تمام متغیرهای موثر در تولید هم‌چون ترکیب خوراک، مداخله آنتی‌بیوتیکی، برنامه واکسیناسیون و تراکم حیوانات، نسبت داده شود. بر این اساس، درمان با فاژها از همان‌ساز و کاری پیروی می‌کند که برای پری‌بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و فیتوبیوتیک‌ها گزارش شده است (۱۵، ۱۶). در مجموع می‌توان گفت خواص مفید این محصولات بیولوژیکی، تاثیر مثبت و لی ناچیزی بر اغلب متغیرهای تولید دارد به‌طوری‌که اثر تجمعی این اثرات مثبت در عملکرد نهایی پرنده نمود یافته و معنی‌دار می‌شود (۱۷). در پژوهش حاضر تلقیح دهانی باکتریوفاژ و تزریق عضلانی آن اثر معنی‌داری بر لاشه آماده طبخ، اجزای لاشه شامل درصد سینه و درصد ران جوجه‌های گوشتی نداشت. با این وجود وزن نسبی سنگدان در جوجه‌های شاهد، تزریق شده با باکتریوفاژ TMU2 و تزریق شده با گروه مخلوط باکتریوفاژها بیش‌تر از جوجه‌های گاواژ شده با باکتریوفاژ TMU2 بود. این یافته‌ها نتایج Wang و همکاران را تایید می نماید. این محققین بیان نمودند که افزودن ۰/۵ گرم در کیلوگرم باکتریوفاژ به خوراک باعث افزایش وزن کبد بدون تأثیر بر خصوصیات عضلات سینه شد. تاکنون مطالعات زیادی برای ارزیابی اثرات باکتریوفاژها بر وزن اعضای لاشه انجام نشده‌است (۱۰). این فرضیه مطرح شده است که باکتریوفاژها می‌تواند به‌طور غیرمستقیم از طریق تغییر جمعیت میکروارگانیسم‌های روده، بر سیستم ایمنی بدن و کبد تاثیرگذار باشند (۱۸). بررسی‌های اخیر، بزرگ شدن قلب، طحال، ریه و کبد پرندگان چالش یافته با اشریشیا کلی و تحت درمان با محلول حاوی باکتریوفاژ در طول دوره آزمایش از روز دوم پس از چالش را تایید نموده‌اند. اخیراً گزارش شده است که افزودن مکمل باکتریوفاژ در خوراک در شرایط پرورش طیور تجاری برای کاربردهای تجاری قابل اجرا است (۱۷، ۱۹). در مورد اثر بخشی فاژها در شرایط تجاری پرورشی امروزی، تحقیقات بیش‌تری مورد نیاز است (۲۰). فاژها می‌توانند در مهار یا تعدیل اثرات تحت بالینی باکتری‌های بیماری‌زا در طیور به ظاهر سالم، موثر باشند. به‌عنوان مثال در مطالعه‌ای برای درمان بیماری کلی باسیلوس با فاژ، در جوجه‌های چالش داده شده با اشرشیاکلی، وزن و تلفات کاهش یافت (۷، ۲۱). در مطالعه دیگری افزودن فاژ به آب آشامیدنی یا خوراک پرندگان مبتلا به کلی باسیلوس تاثیری در بهبود عملکرد یا کاهش تلفات این پرندگان نداشت (۲۲) اما اسپری یا تزریق داخل ماهیچه‌ای فاژ سبب کاهش تلفات شد (۱، ۲۳). استفاده از باکتریوفاژها می‌تواند باعث کاهش موفقیت‌آمیز شمارش

سالمونلا و اشرشیاکلی در اندام‌های داخلی مرغ و مدفوع (۲۴) یا محصولات مرغ (۱، ۱۴، ۲۵) شود. از جمله دلایل عدم تاثیر فاژها بر اغلب صفات مورد بحث در این آزمایش زمان و دوز مصرف فاژها است. نشان داده شده است که استفاده از فاژها در دوزهای پایین‌تر، به‌عنوان مثال ۱۰۲ PFU، اثر محافظتی قابل توجهی در برابر عفونت اشریشیا کلی ایجاد نکرد (۱). علاوه بر این، درمان پیشگیرانه با فاژ درمانی، از گسترش عفونت جلوگیری نکرد (۲۶). در بعضی موارد فقط در پرندگان جوان بعد از تزریق دوزهای بالای فاژ در حد ۱۰۶ PFU، اثر محافظتی حاصل شد (۲۷). در بسیاری از موارد، باید با استفاده از تیتر بالای باکتریوفاژها، اثر فاژ درمانی را به حداکثر رساند تا گسترش عفونت سالمونلا را غیرفعال یا کاهش دهد. یک مانع دیگر در استفاده از فاژ درمانی تعداد بالای سروتیپ‌های *S. enteritidis* و *S. typhimurium* در سکوم مرغ است که فقط برای ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از درمان فاژ مهار می‌شود. به همین دلیل تعیین زمان مناسب در تحویل باکتریوفاژها به پرنده در صنعت طیور ضروری به‌نظر می‌رسد (۲۸). از طرف دیگر، انتخاب فاژ مناسب با قدرت لیتیک مطلوب، حایز اهمیت است. همه فاژها حاوی پروتئین‌های خارجی هستند که می‌توانند باعث ایجاد پاسخ ایمنی شده و به‌طور بالقوه اثربخشی درمان را کاهش دهند و یا حتی منجر به مرگ پرنده در نتیجه شوک آنافیلاکتیک شوند (۲۹، ۳۰). در جمع‌بندی می‌توان چنین استنتاج نمود که در حال حاضر شواهدی از تأثیرات منفی باکتریوفاژ بر افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک در شرایط غیرچالشی جوجه‌های گوشتی (۱۰، ۱۴، ۲۱، ۳۱، ۳۲) وجود ندارد. لذا، باکتریوفازها را می‌توان به‌عنوان دشمنان طبیعی باکتری‌ها شناسایی، جداسازی، تغلیظ و برای اهداف کاربردی (پیشگیری و درمان) در تغذیه طیور استفاده کرد. با این وجود، نوع فاژ، دوز مورد استفاده، روش تجویز و تعداد دفعات تجویز، زمان تجویز و سطح آلودگی گله به باکتری هدف، به‌عنوان عوامل موثر در کارآیی باکتریوفاژها در دستیابی به اهداف پژوهشی موثر هستند و تا بهینه نمودن تمام این عوامل برای فاژها در پرندگان تجاری هنوز راهی طولانی برای پژوهشگران در پیش است. این موضوع انگیزه کافی را برای محققان جهت استمرار پژوهش پیرامون فاژها در تغذیه طیور فراهم می آورد.

استفاده از باکتریوفاژهای ضداشریشیا کلی بیماری‌زای TMU1 و TMU2 از طریق گاواژ دهانی و هم‌چنین تزریق در عضله سینه، تاثیر معنی‌داری بر عملکرد تولیدی و خصوصیات لاشه در جوجه گوشتی تجاری پرورش یافته در حالت طبیعی فیزیولوژیکی (بدون چالش با پاتوژن) نداشت. با این‌وجود، تغیر برخی فراسنجه‌های خون هم‌چون کاهش فعالیت برخی آنزیم‌های کبدی را احتمالاً می‌توان در راستای بهبود سلامت پرنده قلمداد کرد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از آقای دکتر امیر کریمی ترشیزی به‌خاطر فراهم نمودن باکتریوفاژهای مورد استفاده برای این آزمایش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. **Huff, W.E., Huff, G.R., Rath, N.C., Balog, J.M., Xie, H. and Moore, J.P.A., 2002.** Donoghue AM. Prevention of Escherichia coli respiratory infection in broiler chickens with bacteriophage (SPR02). Poult Sci. 81(4): 437-441.
2. **Tavassoli, S.P., Froudi, F. and Mousavi, S.N., 2013.** Effects of garlic extract on yolk cholesterol levels, Egg microbial load and layer performance. J Anim Environ. 5(1): 55-61.
3. **Mousavi Parsa, D., Bazargani-Gilani, B. and Pajohi Alamoti, M., 2018.** Effects of barberry extract singly and combined to Zein edible coating containing onion (Allium cepa) essential oil on Microbial Spoilage of chicken breast meat. J Anim Environ. 10(4): 187-194.
4. **Ackermann, H.W., 2003.** Bacteriophage observations and evolution. Res Microbiol. 154(4): 245-251.
5. **El-Shibiny, A., Connerton, P.L. and Connerton, I.F., 2005.** Enumeration and diversity of campylobacters and bacteriophages isolated during the rearing cycles of free range and organic chickens. Appl Environ Microbiol. 71(3): 1259-1266.
6. **Doffkay, Z., Dömötör, D., Kovács, T. and Rákhely, G., 2015.** Bacteriophage therapy against plant, animal and human pathogens. Acta Biol Szeged. 59(2): 291-302.
7. **Kaikabo, A.A., AbdulKarim, S.M. and Abas, F., 2017.** Evaluation of the efficacy of chitosan nanoparticles loaded ΦKAZ14 bacteriophage in the biological control of colibacillosis in chickens. Poult Sci. 96(2): 295-302.
8. **Golkar, Z., Bagasra, O. and Pace, D.G., 2014.** Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis. J Infect Dev Ctries. 8(02): 129-136.
9. **Statistical analyses system (SAS). 2003.** SAS Users Guide: Statistics. Ver. 6. Cary, NC.
10. **Wang, G.Y., Tu, P., Chen, X., Guo, Y.G. and Jiang, S.X., 2013.** Effect of three polyether ionophores on pharmacokinetics of florfenicol in male broilers. J Vet Pharmacol Ther. 36(5): 494-501.
11. **Huff, W.E., Huff, G.R., Rath, N.C., Balog, J.M. and Donoghue, A.M., 2004.** Therapeutic efficacy of bacteriophage and Baytril (enrofloxacin) individually and in combination to treat colibacillosis in broilers. Poult Sci. 83(12): 1944-1947.
12. **Oliveira, A., Sereno, R., Nicolau, A. and Azeredo, J., 2009.** In vivo toxicity study of phage lysate in chickens. Br Poult Sci. 50(5): 558-563.
13. **Lau, G.L., Sieo, C.C., Tan, W.S., Hair-Bejo, M., Jalila, A. and Ho, Y.W., 2010.** Efficacy of a bacteriophage isolated from chickens as a therapeutic agent for colibacillosis in broiler chickens. Poult Sci. 89(12): 2589-2596.
14. **Atterbury, R.J., Van Bergen, M.A., Ortiz, F., Lovell, M.A., Harris, J.A., De Boer, A., Wagenaar, J.A., Allen, V.M. and Barrow, P.A., 2007.** Bacteriophage therapy to

reduce Salmonella colonization of broiler chickens. Appl Environ Microbiol. 73(14): 4543-4549.

15. **Chambers, J.R. and Gong, J., 2011.** The intestinal microbiota and its modulation for Salmonella control in chickens. Food Res Int. 44(10): 3149-3159.

16. **Diaz-Sanchez, S., D'Souza, D., Biswas, D. and Hanning, I., 2015.** Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. Poult Sci. 94(6):1419-1430.

17. **Noor, M., Runa, N.Y., Husna, A., Rahman, M., Rajib, D.M., Mahbub-e-Elahi, A.T. and Rahman, M.M., 2020.** Evaluation of the effect of dietary supplementation of bacteriophage on production performance and excreta microflora of commercial broiler and layer chickens in Bangladesh. MOJ Proteom Bioinform. 9: 27-31.

18. **Insoft, R.M., Sanderson, I.R. and Walker, W.A., 1996.** Development of immune function in the intestine and its role in neonatal diseases. Pediat Clin. 43(2): 551-571.

19. **Wernicki, A., Nowaczek, A. and Urban-Chmiel, R., 2017.** Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry. Virol J. 14(1): 1-3.

20. **Clavijo, V. and Flórez, M.J., 2018.** The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. Poult Sci. 97(3): 1006-10021.

21. **Zhao, J., Liu, Y., Xiao, C., He, S., Yao, H. and Bao, G., 2017.** Efficacy of phage therapy in controlling rabbit colibacillosis and changes in cecal microbiota. Front Microbiol. 8: 957.

22. **Huff, W.E., Huff, G.R., Rath, N.C. and Donoghue, A.M., 2013.** Method of administration affects the ability of bacteriophage to prevent colibacillosis in 1-day-old broiler chickens. Poult Sci. 92(4): 930-934.

23. **Huff, W.E., Huff, G.R., Rath, N.C., Balog, J.M. and Donoghue, A.M., 2003.** Evaluation of aerosol spray and intramuscular injection of bacteriophage to treat an Escherichia coli respiratory infection. Poult Sci. 82(7): 1108-1112.

24. **Toro, H., Price, S.B., McKee, S., Hoerr, F.J., Krehling, J., Perdue, M. and Bauermeister, L., 2005.** Use of bacteriophages in combination with competitive exclusion to reduce Salmonella from infected chickens. Avian Dis. 49(1): 118-124.

25. **Whichard, J.M., Sriranganathan, N. and Pierson, F.W., 2003.** Suppression of Salmonella growth by wild-type and large-plaque variants of bacteriophage Felix O1 in liquid culture and on chicken frankfurters. J Food Prot. 66(2): 220-225.

26. **Carvalho, C.M., Gannon, B.W., Halfhide, D.E., Santos, S.B., Hayes, C.M., Roe, J.M. and Azeredo, J., 2010.** The in vivo efficacy of two administration routes of a phage cocktail to reduce numbers of Campylobacter coli and Campylobacter jejuni in chickens. BMC Microbiol. 10(1): 1-1.

27. **Barrow, P., Lovell, M. and Berchieri, J.A., 1998.** Use of lytic bacteriophage for control of experimental Escherichia coli septicemia and meningitis in chickens and calves. Clin Diagn Lab Immunol. 5(3): 294-298.

28. **Lim, T.H., Kim, M.S., Lee, D.H., Lee, Y.N., Park, J.K., Youn, H.N., Lee, H.J., Yang, S.Y., Cho, Y.W., Lee, J.B. and Park, S.Y., 2012.** Use of bacteriophage for biological control of Salmonella Enteritidis infection in chicken. Res Vet Sci. 93(3): 1173-1178.

29. **Wright, A., Hawkins, C.H., Änggård, E.E. and Harper, D.R., 2009.** A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa; a preliminary report of efficacy. Clin Otolaryngol. 34(4): 349-357.

30. **Kutter, E., De Vos, D., Gvasalia, G., Alavidze, Z., Gogokhia, L., Kuhl, S. and Abedon, S.T., 2010.** Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections. Curr Pharm Biotechnol. 11(1): 69-86.

31. **Kim, J.H., Kim, J.W., Shin, H.S., Kim, M.C., Lee, J.H., Kim, G. and Kil, D.Y., 2015.** Effect of dietary supplementation of bacteriophage on performance, egg quality and caecal bacterial populations in laying hens. Br Poult Sci. 56(1): 132-136.

32. **Clavijo, V., Baquero, D., Hernandez, S., Farfan, J.C., Arias, J., Arévalo, A., Donado-Godoy, P. and Vives-Flores, M., 2019.** Phage cocktail SalmoFREE® reduces Salmonella on a commercial broiler farm. Poult Sci. 98(10): 5054-5063.