

Improvement of growth performance, microbial balance, and gastrointestinal health in broiler chickens through supplementation with CytoGard

Sare Hajiabadi¹, Mehrdad Movahed Nasab², Jawad Kadhim Al-jorani², Bahman Onagh¹, Amir Asghari Baghkhirati^{1,3}, Mahdi Elahi Torshizi⁴, Abdollah Jamshidi⁵, Jamshid Razmyar^{1,3}, Mohammad Hadi Sukhavati^{1,2}

1- Expert in the Research and Development Department of Nika Zist Afrin Knowledge-Based Company

2- Ph.D. Student, Department of animal science, Faculty Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

3- Managing Director at Nika Zist Afrin Knowledge-Based Company

4- Nika Zist Afrin Knowledge-Based Company

5- Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary medicine, University of Tehran

6- Professor of food microbiology, Food hygiene department, Ferdowsi University of Mashhad

7- Associate professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Nika Zist Afrin Knowledge-Based Company

8- Research and Development Manager at Nika Zist Afrin Knowledge-Based Company

9- Associate professor, Department of animal science, Faculty Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
sekhavati@um.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.94422.1258>

Introduction: The health and safety of the poultry's digestive tract play a vital role in improving performance, growth rate, and reducing mortality in broiler and layer flocks. A healthy digestive system enhances the digestion and absorption of nutrients, thereby increasing feed efficiency. The gut's immune system serves as the first line of defense against pathogens. Any disruption in digestive function can lead to weight loss, reduced egg production, and increased susceptibility of the flock to disease. Additionally, unfavorable farm conditions, such as high density or inadequate ventilation, cause stress that weakens the immune response of the digestive system. Intestinal health is recognized as a key indicator of overall flock performance. Therefore, prioritizing the health and safety of the digestive tract is essential not only as a health necessity but also as an economic strategy to enhance production efficiency.

Materials and methods: In this study, the effects of an oral drinking water supplement containing the avian cytokine (commercially known as CytoGard) were evaluated for the first time in broiler chickens. There were six treatments: three concentrations of CytoGard including 10, 20, and 80 nanograms of the active ingredient per liter of drinking water and three control groups were included: non-supplemented drinking water (Control group), CytoGard without the active cytokine (Cyto0), and a commercial probiotic PrimaLAC at a recommended dose. The trial was conducted over a 42-day rearing period using 360 Ross broiler chicks in a completely randomized design consisting of six replicates in each group and 10 chickens per replicate. Body weight and feed intake were recorded on days 10, 24, and 42. On day 30, blood samples were collected from the experimental groups for hematological analysis and hemagglutination inhibition (HI) testing for influenza and Newcastle disease. For sampling, two birds were randomly selected from four cages per group (a total of 8 birds per group) and killed on day 42. Ileal and cecal digesta were collected for microbiota population analysis, and tissue samples from the duodenum, ileum, and jejunum were collected for intestinal histopathology.

Results and discussion: Our results demonstrated that the concentration of 20 nanograms per liter of the cytokine as an optimal dose, leading to a reduction in feed conversion ratio (FCR) by 0.10 in the starter and grower phases, and up to 0.14 during the finisher phase. During the rearing period, the difference in FCR between this group and the control reached 0.19. Daily

weight gain in this group in the starter phase increased by 0.57 grams per bird. The weight gain differences during the grower and finisher phases were 2.94 g and 2.44 g, respectively. Overall, during the entire trial period, this group showed a significant weight increase (4.13 grams) compared to the control. Moreover, this group showed a 2% reduction in mortality during the rearing period compared to the control group. The concentration of 10 ng/L also resulted in improved FCR and weight gain relative to the control. However, the 80 ng/L concentration showed no significant difference compared to the control. Microbiological analysis of ileal and cecal digesta revealed that supplementation with CytoGard at 20 ng/L significantly reduced the population of the pathogenic bacterium *Escherichia coli* compared to other CytoGard-treated and control groups. Furthermore, the number of beneficial *Lactobacillus* bacteria significantly increased compared to both the control and the Cyto0 groups. CytoGard treatment did not cause any significant changes in hematological parameters or HI antibody titers for Newcastle and influenza viruses compared to the control group.

Histopathological findings showed that 20 ng/L of the cytokine positively affected the intestinal microvilli and increased muscular thickness in the duodenum, jejunum, and ileum sections. Villus length and muscular layer thickness in the 20 ng/L group were significantly increased in the jejunum section compared to the control and Cyto0 groups.

Conclusion: In conclusion, regular administration of CytoGard as a drinking water supplement at the optimal concentration during the rearing period resulted in increased body weight and reduced FCR in broiler chickens. This supplement also had a significant impact on modulating the gut microbial population and enhancing villus height and muscle thickness. Therefore, CytoGard may serve as a novel and effective strategy for improving gastrointestinal health and reducing treatment costs in the poultry industry.

Keywords: Cytokine, Gastrointestinal health, Gut microbiota, Histopathology

بهبود عملکرد رشد، تعادل میکروبی و سلامت دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی با مصرف مکمل سایتوگارد

ساره حجتی آبادی^۱، مهرداد موحد نسب^۲، جواد کاظم صلال الجورانی^۳، بهمن اونق^۱، امیر اصغری باغخیراتی^{۳،۱}، مهدی الهی^۴، عبدالله جمشیدی^۵، جمشید رزمیار^{۳،۱*}، محمد هادی سخاوتی^{۱،۲*}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۸

۱. شرکت دانش بنیان نیکا زیست آفرین
۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۳. گروه بیماریهای طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.
۴. گروه آمار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد.
۵. گروه بهداشت غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد.

چکیده

سلامت و ایمنی دستگاه گوارش طیور نقش حیاتی در بهبود عملکرد، رشد مناسب و کاهش تلفات در گله مرغ‌های گوشتی و تخم‌گذار دارد. در این پژوهش اثرات مصرف مکمل آشامیدنی با نام تجاری سایتوگارد (حاوی ماده موثره سایتوکاين اینترلوکین-۱۰ مرغی) در سه غلظت ۱۰، ۲۰ و ۸۰ نانوگرم در هر لیتر آب آشامیدنی همراه با سه گروه شاهد (آب معمولی، پروبیوتیک پریمالاک و سایتوگارد بدون ماده موثره) بر روی ۳۶۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۶ تکرار ۱۰ قطعه‌ای در یک دوره پرورش ۴۲ روزه مورد بررسی قرار گرفت. وزن جوجه‌ها و میزان غذای باقیمانده در روزهای ۱۰، ۲۴ و ۴۲ ثبت شد. در روز ۴۲ نمونه‌برداری از محتویات هضمی ایلئوم و روده کور برای بررسی جمعیت میکروبی و بافت روده برای بررسی ریخت‌شناسی انجام شد. نتایج نشان داد که غلظت ۲۰ نانوگرم بر لیتر از سایتوکاين به عنوان غلظت بهینه، سبب کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی و افزایش معنی‌دار وزن روزانه در کل دوره نسبت به شاهد شد. این غلظت سبب کاهش جمعیت باکتری پاتوژن اشرشیاکلی و افزایش معنی‌دار باکتری‌های سودمند لاکتوباسیلوس در محتویات هضمی ایلئوم و سکوم روده شد. نتایج ریخت‌شناسی روده نشان داد غلظت ۲۰ نانوگرم بر لیتر آب آشامیدنی اثرات مثبتی بر روی افزایش طول پرزها و افزایش ضخامت عضله روده داشت. بنابراین استفاده منظم از سایتوگارد در طول دوره پرورش می‌تواند به عنوان یک راهکار نوین و مؤثر در ارتقاء سلامت گوارشی در صنعت پرورش طیور مطرح شود.

واژه های کلیدی: سایتوکاين، سلامت دستگاه گوارش، فلور میکروبی دستگاه گوارش، ریخت‌شناسی روده

مقدمه

با توجه به رشد چشمگیر جمعیت جهان طی سال‌های آینده و همچنین نیاز فراوان غذایی این جمعیت به منابع پروتئین حیوانی، اهمیت صنعت طیور را به عنوان تأمین‌کننده بیش از ۴۰ درصد از تولیدات گوشتی بیش از پیش حیاتی می‌نماید (Bist et al, 2024; Mottet & Tempio, 2017). در ایران نیز صنعت طیور سهم قابل‌توجهی در تأمین امنیت غذایی، ایجاد اشتغال و افزایش گردش مالی در بخش کشاورزی دارد. با این حال، توسعه و بهره‌وری این صنعت به شدت تحت تأثیر عوامل بیماری‌زا قرار دارد. بیماری‌های عفونی، به‌ویژه عفونت‌های باکتریایی مانند سالمونلا، اشرشیاکلی و کلوستریدیوم، هر ساله خسارات اقتصادی قابل‌توجهی به واحدهای پرورشی وارد می‌کنند. این خسارات شامل کاهش رشد، افزایش تلفات، افت کیفیت لاشه، و تحمیل هزینه‌های سنگین درمان و کنترل بیماری است (Lutful Kabir, 2010). استفاده مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان ابزار اصلی مقابله با بیماری‌ها، گرچه در کوتاه‌مدت مؤثر است، اما منجر به بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و ایجاد نگرانی‌های جدی در حوزه سلامت عمومی و ایمنی غذایی شده است. در سال‌های اخیر، با افزایش محدودیت‌های مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، توجه ویژه‌ای به تقویت سیستم ایمنی مخاطی طیور و ارتقای سلامت دستگاه گوارش به عنوان راهکاری پایدار و مؤثر برای کاهش بروز بیماری‌ها شده است تا پرندگان انرژی خود را صرف رشد و عملکرد کنند (Kogut, 2009; Lillehoj & Lee, 2012).

تولید جوجه‌ی با کیفیت و سودآور کاملاً به حفظ سلامت روده و عملکرد مطلوب سیستم ایمنی بستگی دارد. تولید جوجه را می‌توان با بهبود پاسخ ایمنی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا از طریق مواد مغذی کارآمد افزایش داد. تولید بالاتر و ضریب تبدیل غذایی کمتر، ضرورت صنعت جوجه داری مدرن است و می‌توان با اضافه کردن افزودنی‌های خاص به جیره غذایی یا آب آشامیدنی به آن دست یافت (Nosrati et al, 2017). امروزه استفاده از آنتی‌بیوتیک در جیره‌های

غذایی طیور با توجه به اثرات زیست محیطی، تخریب فلور مفید دستگاه گوارش و همچنین ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی و پیامدهای آن برای سلامت انسان، دارای محدودیت‌هایی می‌باشد (Arsène et al, 2022; Owusu-Doubreh, 2023). بنابراین در سال‌های اخیر محققان جایگزین‌های مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها همچون پروبیوتیک‌ها (Appaw, & Abe-Inge, 2023; Patterson & Burkholder, 2003; Rashid, Alsayeqh, Akhtar, Abbas & Rehan Ashraf, 2023)، پری‌بیوتیک‌ها (Roberfroid, 2007)، ترکیبات گیاهی (Huyghebaert, Ducatelle, & Immerseel, 2011)، پپتیدهای ضد میکروبی (Wang, Zeng, Yang, & Qiao, 2016) معرفی کردند.

در این میان، سایتوکاین‌ها نقش کلیدی در تنظیم و هدایت پاسخ‌های ایمنی دارند. (Nguyen, Aljamaei, & Stadnyk, 2021). یکی از مهم‌ترین سایتوکاین‌های ضد التهابی، اینترلوکین- 10 است که نقش حیاتی در کنترل التهاب و حفظ تعادل ایمنی ایفا می‌کند. IL-10 با مهار تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی نظیر فاکتور نکروز تومور- α ، اینترلوکین 1 بتا و اینترلوکین 6 و نیز کاهش فعالیت ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک، از بروز واکنش‌های التهابی بیش از حد جلوگیری کرده و به حفظ وضعیت ایمنی متعادل کمک می‌کند (Couper, Blount, & Riley, 2008). پژوهش‌های فراوانی نقش IL-10 مخاطی را در افزایش یکپارچگی و استحکام اپیتلیال روده به وضوح نشان داده‌اند (Tomoyose, Mitsuyama, Ishida, Toyonaga, & Tanikawa, 1998; Oshima et al, 2001; Berg et al, 2002; Mazzon, Puzzolo, Caputi, & Cuzzocrea, 2002). به نظر می‌رسد IL-10 مخاطی نقش اساسی در تنظیم ایمنی مخاطی حیوان ایفا می‌کند (Berg et al, 2002). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که مکانیسم مولکولی مرتبط با IL-10 مخاطی در افزایش پایداری و استحکام سلول‌های اپیتلیال روده‌ای شامل افزایش بیان پروتئین‌های اتصال دهنده سلولی مانند آکلودین³ و ای-کاده‌رین⁴ است (Sun et al, 2008). همچنین در این پژوهش‌ها نشان داده شده است که در اثر تنش‌های محیطی و تغذیه‌ای میزان IL-10 مخاطی کاهش یافته که این امر باعث کاهش سلامت و استحکام مخاطی دستگاه گوارش می‌شود. محققین این پژوهش نشان دادند مصرف خوراکی IL-10 نو ترکیب با افزایش میزان بیان اتصال دهنده سلولی آکلودین و ای-کاده‌رین می‌تواند سلامت و استحکام سلولی و مخاطی روده را دوباره به حالت اول برگرداند (Sun et al, 2008). به نظر می‌رسد عوامل تنش‌زا و سموم خوراکی به عنوان شاخص‌های مهم در کاهش بیان و ترشح IL-10 موکوسی نقش بسزائی داشته باشند (Nguyen et al, 2021). این کاهش بیان و ترشح IL-10 مخاطی می‌تواند در اثر مکانیسم‌هایی که در بالا شرح داده شد، سلامت روده را تحت تاثیر قرار دهد.

استفاده خوراکی از سایتوکاین‌ها هرچند در در حیوانات مزرعه‌ای محدود بوده است اما در مطالعات پیشین مصرف خوراکی گروه قابل توجهی از سایتوکاین‌ها در حیوانات مدل (Baggi et al, 1999; Marinaro et al, 1999; Lowenthal et al, 2000; Pedretti et al, 2006; Gariboldi et al, 2009; Smith et al, 1999; Mughini, 2000; Polman et al, 2003; Zhang et al, 2009; Almon et al, 2021) گزارش شده است. هر چند که در ارتباط با اثربخشی سایتوکاین‌ها به دلیل حساسیت بالا به شرایط اسیدی و هضمی دستگاه گوارش تردیدهایی وجود دارد، با این حال، تعداد قابل توجهی از مطالعات، مصرف خوراکی سایتوکاین‌ها را بسیار موثر دانسته‌اند (Frazzini, Riva, & Amadori, 2021).

در پژوهش حاضر اثرات محصول دانش بنیان مکمل آشامیدنی سایتوگارد حاوی ماده موثره اینترلوکین- 10 مرغی در سه دز متفاوت از ماده موثره در مقایسه با مکمل پروبیوتیک پریمالاک با اثرات مشابه بر سلامت روده (بر روی جوجه‌های

¹ Interleukin-10 (IL-10)

² Tumor necrosis factor alpha (TNF- α)

³ Occludin

⁴ E-cadherin

گوشتی سویه راس به صورت پیوسته در آب آشامیدنی در مدت ۴۲ روز) بر روی عملکرد، تعادل میکروبی و سلامت دستگاه گوارش بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تولید سایتوگارد

این محصول در شرکت دانش بنیان نیکا زیست آفرین واقع در مرکز رشد دانشگاه فردوسی مشهد با بهره‌گیری از فناوری DNA نو ترکیب تولید شد. روش تولید و همچنین بررسی اثرات برون تنی این ترکیب بر روی سلول‌های طحال مرغ در پژوهش‌های قبلی مورد بررسی و تایید قرار گرفته است (Al-jorani, Razmyar, Haghparst, Hajiabadi, Sekhavati, In press). به طور خلاصه، با استفاده از تکنولوژی DNA نو ترکیب و مهندسی ژنتیک، ژن کدکننده سایتوکاين اینترلوکین-۱۰ مرغی به داخل وکتور بیانی باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* منتقل شد و بعد از غربالگری‌های اختصاصی باکتری، تولید سایتوکاين اینترلوکین-۱۰ در فرمانتور بهینه سازی شد. در مرحله بعد اینترلوکین-۱۰ مرغی نو ترکیب تولید شده به منظور محافظت در برابر هضم دستگاه گوارش با استفاده از فرآورده‌های نانوتکنولوژی، برای کاهش اثرات هضمی بر روی سایتوکاين پوشش‌دهی شد و سپس با روش خشک‌سازی انجمادی (فریزدرای) تولید شد. ماده موثره حاصل (اینترلوکین-۱۰) با رقیق کننده‌های ایمن در دزهای مختلف تولید و در دسترس محققین این پژوهش قرار گرفت. لازم به ذکر است تعیین دزها با استفاده از کیت اختصاصی الیزا برای اینترلوکین-۱۰ مرغی (کیت الیزا اینترلوکین-۱۰ مرغی، SUNLONG، چین) طبق پروتوکول ارائه شده انجام شد.

تقسیم بندی پرندوها و گروه‌های آزمایشی

آزمایش با هدف بررسی اثرات سایتوگارد بر روی جوجه‌های گوشتی، در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. برای این منظور تعداد ۳۶۰ قطعه جوجه نر گوشتی سویه راس ۳۰۸ یک روزه خریداری شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. وزن اولیه جوجه‌ها در هر قفس ثبت شد. ۶ گروه آزمایشی با ۶ واحد آزمایشی و ۱۰ جوجه در هر واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. گروه‌های آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. گروه‌های آزمایشی شامل، محصول دانش بنیان سایتوگارد با سه دز از ماده موثره سایتوکاين مرغی و همچنین سایتوگارد بدون ماده موثره (تنها حاوی رقیق کننده‌های ایمن)، گروه شاهد مثبت (پروبیوتیک تجاری محلول در آب پریمالاک با دز پیشنهادی شامل: از صفر تا ۲۰ روزگی ۲۰ گرم در ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی، و از ۲۰ روزگی به بعد ۶۰ گرم در هزار لیتر آب مصرفی) و گروه کنترل (دریافت کننده آب معمولی) در نظر گرفته شد. مصرف سایتوگارد به صورت پیوسته از روز صفر تا روز ۴۲ ادامه داشت. شرایط دما، رطوبت و روشنایی سالن متناسب با سن جوجه‌ها تنظیم شد. جوجه‌ها به مدت ۴۲ روز نگهداری شدند.

جدول ۱- فهرست تیمارهای آزمایشی

Table 1- List of experimental treatments

گروه	تیمار آب آشامیدنی
Group	Treatment of drinking water
Cyto0	سایتوگارد بدون ماده موثره CytoGard without active ingredient
Cyto10	۱۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره 10 ng/L of the active ingredient
Cyto20	۲۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره 20 ng/L of the active ingredient
Cyto80	۸۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره 80 ng/L of the active ingredient

Pro.	پروبیوتیک تجاری پریمالاک با دز پیشنهادی
	Commercial probiotic PrimaLac at the recommended dose
Cont.	کنترل (آب معمولی)
	Cont. (Regular water)

جیره غذایی و تیمار آب آشامیدنی

جیره غذایی برای دوره‌های مختلف رشد شامل آغازین (۱ الی ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ الی ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ الی ۴۲ روزگی) آماده شد (جدول ۲). دسترسی به آب و غذا در طول روز کنترل شد. تعویض آب سه بار در روز در ظروف کله قندی انجام شد.

جدول ۲- اجزای تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره غذایی (درصد)

Table 2- Components and chemical compositions of the diet (Percentage)

اجزای جیره Diet components	آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (1-10 days)	رشد و (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (11-24 days)	پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (25-42 days)
کنجاله سویا Soybean	35.92	36.24	33.4
ذرت Corn	55	53.12	55.58
روغن Oil	3	5	5.7
دی کلسیم فسفات Di-Calcium phosphate	1.64	1.45	1.38
ال-لیزین L-ysin	0.32	0.34	0.13
سنگ آهک Limestone	1.55	1.28	1.27
نمک Salt	0.42	0.42	0.42
مکمل معدنی ^۱ Mineral premix	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینه ^۲ Vitamin premix	0.25	0.25	0.25
دی-ال-متیونین D-L- Methionine	0.15	0.15	0.12
سبوس گندم Wheat bran	1.5	1.5	1.5

ترکیبات شیمیایی جیره

Chemical compounds of the diet

انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) ME, kc	2900	3024	3090
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	21.1	20.95	19.8
چربی خام (درصد) Crude fat (%)	5.42	7.35	8.12
فیبر خام (درصد) Crude fiber (%)	3.89	3.87	3.7
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.99	0.86	0.83
فسفر قابل دسترس (درصد)	0.47	0.43	0.41

Available phosphorus			
سدیم (درصد)	0.18	0.18	0.18
Sodium (%)			
لازین (درصد)	1.37	1.39	1.37
Lysine (%)			
متیونین (درصد)	0.47	0.47	0.43
Methionine (%)			
آرژنین (درصد)	1.47	1.48	1.39
Arginine (%)			
لینولنیک اسید (درصد)	1.44	5.04	5.6
Linolenic acid (%)			
ترئونین	0.84	0.84	0.79
Threonine			

^۱ هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل: سولفات منگنز ۲۴۸ میلی گرم، سولفات آهن ۱۲۵ میلی گرم، اکسید روی ۲۱۱ میلی گرم، سولفات مس ۲۵ میلی گرم، یدات کلسیم ۲۵ میلی گرم، سلنیوم ۵ میلی گرم، کولین ۶۲۵ میلی گرم، آنتی اکسیدان ۲۵ میلی گرم

^۲ هر کیلو گرم مکمل ویتامینه شامل: ویتامین A ۲۲۵۰۰ واحد بین المللی ویتامین، ویتامین D3 ۵۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین، ویتامین E ۴۵ واحد بین المللی ویتامین، ویتامین B1 ۴ میلی گرم، ویتامین K ۵ میلی گرم، ویتامین B12 ۰/۴ میلی گرم، اسید پانتوتنیک ۲۴ میلی گرم، اسید فولیک ۲/۵ میلی گرم، نیاسین ۷۴ میلی گرم، پیریدوکسین ۷/۳ میلی گرم، بیوتین ۰/۰۴ میلی گرم

^۱ Mineral premix supplied the following, per kilogram of diet: Manganese sulfate 248 mg, Ferrous sulfate 125 mg, Zinc oxide 211 mg, Copper sulfate 25 mg, Calcium iodate 25 mg, Selenium 5 mg, Choline 625 mg, Antioxidant 25 mg

^۲ Vitamin premix supplied the following, per kilogram of diet: Vitamin A 22500 IU, Vitamin D3 5000 IU, Vitamin E 45 IU, Vitamin B1 4 mg, Vitamin K 5 mg, Vitamin B12 0.4 mg, Pantothenic acid 24 mg, Folic acid 2.5 mg, Niacin 74 mg, Pyridoxine 7.3 mg, Biotin 0.04 mg

صفات مورد اندازه گیری آزمایش

در روزهای ۱، ۱۰، ۲۴ و ۴۲ وزن جوجه ها و میزان غذای باقیمانده در هر قفس اندازه گیری شد. در کل دوره تلفات و وزن جوجه تلف شده ثبت شد. میزان خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی و شاخص تولید اروپایی^۵ مطابق معادله ۱ الی ۵ محاسبه شد (Huff et al, 2013; Seighalani, Royan, Mottaghitalab, & Zare, 2025).

معادله (۱)

روز مرغ = (تعداد پرند در پایان دوره × طول دوره) + تعداد روزهای زنده مانده تلفات

معادله (۲)

خوراک مصرفی (گرم) = وزن خوراک باقیمانده در انتهای دوره (گرم) - وزن خوراک در ابتدای دوره (گرم)

روز مرغ

معادله (۳)

افزایش وزن روزانه (گرم) = (وزن جوجه ها در ابتدای دوره + وزن جوجه تلف شده) - وزن جوجه ها در انتهای دوره

روز مرغ

⁵ European Production Efficiency Factor

معادله (۴)

ضریب تبدیل غذایی = میانگین مصرف خوراک روزانه (گرم) / میانگین افزایش وزن روزانه (گرم)

معادله (۵)

شاخص تولید اروپایی = $\frac{\text{میانگین وزن زنده (کیلوگرم)} \times \text{درصد زنده مانی گله}}{100 \times}$

ضریب تبدیل خوراک $\times$ طول دوره آزمایش

شمارش سلول‌های خونی و تیتراژ آنتی بادی

در این پژوهش، برنامه واکسیناسیون مطابق با الگوی رایج در صنعت طیور منطقه اجرا شد. جوجه‌ها در روز ۱۰، ۱۶ و ۲۵ پرورش با واکسن دوگانه نیوکاسل و برونشیت واکسینه شدند. نمونه‌برداری خون از بال پرند در روز ۳۰ دوره جهت تست HI^۶ (تیتراژ آنتی‌بادی در برابر نیوکاسل و آنفلوآنزا) انجام شد. از ۴ تکرار هر گروه و ۲ جوجه از هر قفس یعنی ۸ جوجه از هر گروه خون‌گیری انجام شد. همچنین نمونه‌برداری خون با ماده ضدانعقاد EDTA برای شمارش سلول‌های خونی انجام شد و نمونه‌ها برای آنالیز ارسال گردید (Vertiprakhov et al, 2021).

کشت میکروبی

در پایان دوره، از ۴ تکرار هر گروه و ۲ جوجه از هر قفس یعنی ۸ جوجه از هر گروه بر اساس میانگین وزن انتخاب شد و کشتار شدند. نمونه‌برداری از محتویات هضمی ایلئوم و روده کور (سکوم) برای کشت میکروبی در شرایط استریل انجام شد. ۸ نمونه محتویات هضمی روده از هر گروه مورد آزمون میکروبی قرار گرفتند. جهت کشت اشریشیاکلی از محیط کشت EMB agar و برای کشت لاکتوباسیلوس‌ها از محیط کشت MRS agar، استفاده شد. کشت میکروبی بر روی محتویات هضمی روده بخش میانی ایلئوم و سکوم جداگانه انجام شد. ابتدا رقت ۰/۱ از نمونه محتویات هضمی روده در بافر PBS آماده شد. سپس رقت‌های متوالی آماده شدند. در نهایت ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت روی پلیت به صورت سطحی کشت شد. انکوباسیون پلیت‌های EMB در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. انکوباسیون لاکتوباسیلوس‌ها در شرایط بی‌هوازی انجام شد و پس از ۷۲ ساعت شمارش کلنی‌ها انجام شد. تعداد کلنی‌ها در هر گرم نمونه محاسبه شد (Snijder, & Meulenber, 1998; Zhang et al, 2021).

ریخت شناسی روده کوچک

برای بررسی ویژگی‌های ریخت شناسی روده، از جوجه‌های کشتار شده نمونه‌برداری از بافت‌های مقاطع دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم از ۴ تکرار هر گروه و ۲ جوجه از هر قفس با برش عرضی انجام شد. مقاطع بافتی با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد و نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند. سه بار تعویض فرمالین با فواصل ۲۴ ساعت انجام شد. سپس بافت‌ها آبگیری و پارافینه شدند. آبگیری بافت‌ها به ترتیب در الکل ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد به مدت ۱ ساعت انجام شد، تا الکل جایگزین آب بافت شود. سپس مراحل پارافینه کردن، قالب‌گیری و برش بافت‌ها انجام شد (Seighalani et al, 2025). نمونه‌ها با هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. طول ویلی و قطر عضله با میکروسکوپ نوری مدل Olympus bx41 بر حسب میکرومتر اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری

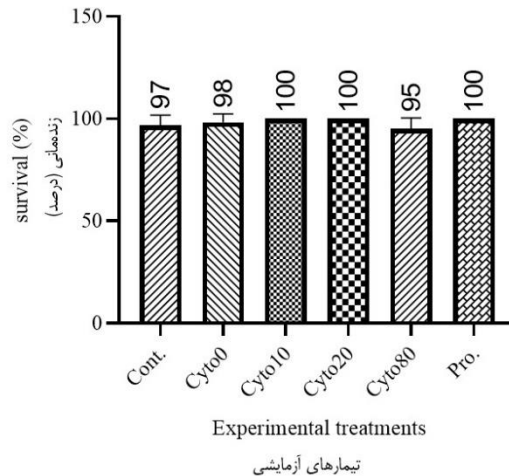
⁶ Hemagglutination inhibition

نتایج به دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM و با استفاده از نرم افزار آماری SAS ویراش ۹,۳ مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه دانکن استفاده و تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمالی کمتر از پنج درصد به عنوان معنی‌دار گزارش شدند. مدل ریاضی طرح آماری استفاده شده عبارت است از $y_{ij}=M+T_i+e_{ij}$ که در آن y_{ij} متغیر وابسته (مقدار مشاهده)، M اثر ثابت میانگین، T_i اثر تیمار، e_{ij} اثر خطای آزمایش است. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها به صورت زیر مشخص شده است. $****p \leq 0.0001$ ، $***p \leq 0.001$ ، $**p \leq 0.01$ ، $*p \leq 0.05$.

نتایج و بحث

یکی از مواردی که در سال‌های اخیر به عنوان مکمل‌های تغذیه‌ای توجه محققین را به خود جلب کرده است پستی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. در واقع پستی‌بیوتیک‌ها محصولات فرعی پروبیوتیک‌ها می‌باشند که در فرآیند تخمیر تولید شده و می‌توان از فواید آن‌ها به‌عنوان مواد موثره در مکمل‌های تغذیه‌ای استفاده کرد (Saeed et al, 2023; Roque et al, 2025). محصول سایتوگارد را می‌توان در گروه محصولات بر پایه پستی‌بیوتیک دسته‌بندی کرد. این محصول به عنوان فرآورده حاصل از فرآیند تخمیر می‌باشد که در این فرآیند سایتوکاين نو ترکیب تولید شده و بعد از فرآوری‌های مناسب به عنوان ماده موثره در محصول حاضر مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج نرخ زنده‌مانی در گروه‌های آزمایشی (شکل ۱) نشان داد که در گروه پروبیوتیک و گروه‌هایی که غلظت ۱۰ و ۲۰ نانوگرم بر لیتر از سایتوگارد را دریافت کردند، ۱۰۰ درصد بود، اما در گروهی که مکمل سایتوگارد را دریافت نکردند، نرخ زنده‌مانی به ۹۸ درصد کاهش یافت. همچنین نرخ زنده‌مانی در گروه کنترل و گروهی که سایتوگارد با غلظت ۸۰ نانوگرم بر لیتر را مصرف کردند به ترتیب به میزان ۹۸ و ۹۶ درصد رسید (شکل ۱). بنابراین نتایج نشان می‌دهد سایتوگارد در دزهای پایین‌تر (۱۰ و ۲۰ نانوگرم بر لیتر) احتمالاً دارای اثر محافظتی مناسب‌تری بوده و به عنوان یک افزودنی ایمن و مؤثر در آب آشامیدنی طیور قابل توصیه است. مطالعات بسیاری کاهش تلفات در هنگام استفاده از پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی را گزارش کرده‌اند (Nam et al, 2022). مصرف پروبیوتیک احتمالاً با تقویت سیستم ایمنی، تعادل میکروبیوم روده و بهبود جذب مواد مغذی از رشد باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری کرده و سلامت کلی پرنده را افزایش می‌دهد، در نتیجه تلفات ناشی از عفونت‌های احتمالی، سوء تغذیه و تنش کاهش می‌یابد (Khosravi et al, 2025; Kumar et al, 2025; Idowu et al, 2025). نتایج این پژوهش همچنین حاکی از این بود که دزهای پائین سایتوگارد نیز باعث کاهش نرخ تلفات شدند. مصرف دز پایین اینترلوکین-۱۰ مرغی در جوجه‌های گوشتی ممکن است با تنظیم پاسخ ایمنی ضد التهابی، از التهابات بیش از حد و در نتیجه آسیب‌های بافتی جلوگیری کرده و در نتیجه باعث کاهش تلفات شود. اینترلوکین-۱۰ با مهار سایتوکاين‌های پیش التهابی ($TNF-\alpha$ و IL-6) تعادل ایمنی را بهبود می‌بخشد و تنش متابولیک را کاهش می‌دهد (Carlini et al, 2023)، ولی دزهای بالا احتمالاً باعث سرکوب ایمنی می‌شود و جوجه‌ها را مستعد عفونت‌های ثانویه و در نتیجه حساسیت به باکتری‌های بیماری‌زا می‌کنند (Couper et al, 2008; Ouyang et al, 2011; Carlini et al, 2023). بعلاوه دزهای بالا می‌تواند بر متابولیسم انرژی تأثیر منفی داشته و باعث کاهش رشد یا افزایش تنش اکسیداتیو شود (Ouyang et al, 2011).



شکل ۱- نرخ زنده‌مانی جوجه گوشتی در اثر تیمارهای مختلف طی ۴۲ روز. Cont. (آب معمولی)، Cyto0 (سایتوگارد بدون ماده موثره)، Cyto10 (۱۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Cyto20 (۲۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Cyto80 (۸۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Pro. (پروبیوتیک تجاری پریمالاک با دز پیشنهادی). میانگین همراه با SD در هر ستون آورده شده است.

Figure 1- Survival rate of broiler chickens under various treatments during 42 days. Cont. (Regular water), Cyto0 (CytoGard without active ingredient), Cyto10 (10 ng/L of the active ingredient), Cyto20 (20 ng/L of the active ingredient), Cyto80 (80 ng/L of the active ingredient), Pro (Commercial probiotic PrimaLac at the recommended dose). The mean $\pm$ SD is given in each column

اثر سایتوگارد بر وزن و عملکرد جوجه گوشتی

نتایج مربوط به اثرات سایتوگارد بر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و شاخص تولید اروپایی در جدول ۳ آورده شده است.

در دوره رشد بالاترین وزن مربوط به Cyto20 و پروبیوتیک بود (۴۹/۴۴ گرم) که نسبت به شاهد و Cyto0 و Cyto80 معنی‌دار بود ($P < 0.05$). گروه Cyto20 حدود ۳ گرم افزایش وزن نسبت به گروه شاهد و ۳/۵ گرم افزایش نسبت به گروه Cyto0 نشان داد ($P < 0.05$). افزایش وزن گروه Cyto10 نسبت به شاهد نیز معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در کل دوره ۱ تا ۴۲ روزگی بالاترین افزایش وزن مربوط به Cyto20 و کمترین آن مربوط به Cyto80 بود. افزایش وزن روزانه گروه Cyto20 نسبت به گروه شاهد ۴/۱۳ گرم بیشتر به ازای هر جوجه بود و نسبت به گروه Cyto0 ۳/۹۱ گرم افزایش معنی‌دار نشان داد ($P < 0.05$). به صورت کلی در گروه Cyto80 افزایش وزن در دوره‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نشان نداد. این مورد احتمالاً نشان دهنده اثر سایتوگارد در غلظت‌های مشخص است و افزایش غلظت بیشتر اثرات معنی‌داری در افزایش وزن یا کاهش ضریب تبدیل خوراک ندارد. این اثرات کاهشی احتمالاً به دلیل اثرات منفی دز بالا بر متابولیسم یا اختلال در تعادل ایمنی و میکروبیوتای روده می‌باشد که مشابه یافته‌های سایر پژوهش‌هاست که استفاده بیش از حد از ترکیبات ایمنی‌تعدیل‌گر می‌تواند اثر معکوس داشته باشد (Redmond et al, 2010).

ضریب تبدیل خوراک به عنوان یک فاکتور مهم در صنعت مرغداری مطرح است. در همه‌ی دوره‌های پرورش، ضریب تبدیل خوراک در گروه Cyto20 کمترین مقدار بود. در دوره آغازین کاهش ضریب تبدیل غذایی گروه Cyto20 نسبت به گروه Cyto80 بسیار قابل توجه بود ($P < 0.05$) و این احتمالاً نشان دهنده تاثیرات منفی دزهای بالا در دوره آغازین بر راندمان هضم و جذب مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی می‌باشد. در دوره پایانی تفاوت معنی‌داری در کاهش ضریب تبدیل خوراک بین گروه Cyto20 و Cyto80 مشاهده گردید ($P < 0.05$). در کل دوره کاهش میزان ضریب تبدیل خوراک در گروه Cyto20 نسبت به گروه Cyto80 و شاهد معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

شاخص تولید اروپایی در گروه Cyto20 و پروبیوتیک تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و سایر غلظت‌های سایتوگارد نشان داد ($P < 0.05$)، به‌طوری که بالاترین شاخص تولید اروپایی را در بین کلیه تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد نشان

داد. شاخص تولید اروپایی یکی از معتبرترین شاخص‌ها در ارزیابی عملکرد مرغ‌های گوشتی است که ترکیبی از سرعت رشد روزانه، درصد زنده‌مانی و ضریب تبدیل خوراک می‌باشد (Adaszyńska-Skwirzyńska et al, 2025). افزایش مقدار این شاخص در گروه دریافت‌کننده سایتوگارد با غلظت ۲۰ نانوگرم بر لیتر بیانگر آن است که این افزودنی توانسته است با بهبود بخشی از فاکتورهای اصلی رشد، بازدهی تولید را ارتقا دهد. مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که بعضی پروبیوتیک‌ها و پپتیدهای ضدباکتریایی و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی سبب بهبود سلامت دستگاه گوارش و کاهش التهاب در پرندگان شده و از این طریق می‌تواند موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک و افزایش شاخص تولید گردد (Hussain et al, 2022; Abd El-Ghany et al, 2025; Qazi et al, 2024). به نظر می‌رسد، سایتوگارد از طریق کاهش بار میکروبی روده، بهبود جمعیت میکروبی مفید و افزایش جذب مواد مغذی توانسته است در غلظت ۲۰ نانوگرم بر لیتر بیشترین تاثیر را داشته باشد.

مقدار شاخص اروپایی بدست‌آمده در این مطالعه (۳۳۱/۱۲) در محدوده بالای شاخص اروپایی قرار دارد، زیرا معمولاً مقادیر بین ۲۰۰ تا ۴۰۰ برای شرایط پرورش صنعتی گزارش شده است (Adaszyńska-Skwirzyńska et al, 2025). این موضوع نشان می‌دهد که استفاده از سایتوگارد در غلظت بهینه می‌تواند شرایط عملکردی معادل استانداردهای صنعتی را فراهم کند. با این حال، عدم افزایش معنی‌دار شاخص در برخی غلظت‌های دیگر سایتوگارد بیانگر آن است که اثرات این ترکیب وابسته به دوز بوده و تنها در محدوده‌های خاصی حداکثر کارایی را نشان می‌دهد. در بررسی منابع به چاپ رسیده مواردی که شاید بتوان به عنوان تناقض با پژوهش حاضر از آن‌ها یاد کرد شامل موارد زیر می‌باشد. در چندین پژوهش استفاده از آنتی‌بادی اینترلوکین-۱۰ مرغی به عنوان مکمل تغذیه‌ای در جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفته است (Arendt, Sand, Marcone, & Cook, 2016; Rasheed et al, 2020; Ren et al, 2022). در این مطالعات اشاره شده است که حذف و کاهش اینترلوکین-۱۰ فعال موکوسی در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی احتمالاً باعث پاک‌سازی بیماری‌هایی همچون کوکسیدیوز شده و می‌تواند در این رابطه اثرات مفیدی داشته باشد. با این حال، در همین مطالعات تأکید شده است که از آنجا که اینترلوکین-۱۰ موکوسی یک مهارکننده قوی التهاب دستگاه گوارش است، کاهش یا حذف آن می‌تواند منجر به بروز التهاب‌های شدید و زخم‌های متعدد روده شود که در نتیجه ضریب تبدیل غذایی را کاهش داده و در برخی موارد موجب افزایش تلفات شده است (Sand, Arendt, Repasy, Deniz, & Cook, 2016; Ren et al, 2022).

دسته‌ی دیگر از پژوهش‌ها گزارش کرده‌اند که جهش در ژن کدکننده اینترلوکین-۱۰ جوجه‌های گوشتی سبب کاهش بیان اینترلوکین-۱۰ شد و اثرات مفیدی در بهبود FCR و افزایش رشد این جوجه‌ها نشان داد (Ghebremicael, Hasenstein, & Lamont, 2008). البته در ارتباط با این نتایج، یافته‌های اخیر پژوهشگران (Meunier et al, 2025) این ادعا را رد کرده است. در این پژوهش با ایجاد جهش‌های هدفمند در ژن کدکننده اینترلوکین-۱۰ در جوجه‌های گوشتی و تولید جوجه‌های تراریخته دارای نقص در بیان نرمال ژن اینترلوکین-۱۰ نشان داده شده است که کاهش بیان ژن اینترلوکین-۱۰ تأثیری در بهبود تبدیل غذایی و افزایش وزن نداشته است.

تا کنون پژوهشی که اثرات اینترلوکین-۱۰ نو ترکیب را بر روی طیور بررسی کرده باشد منتشر نشده است اما تیمار با ترکیبات دیگر در آب آشامیدنی بررسی شده است. در ۲۰۱۷ نصرتی و همکاران اثر تیمارهای مختلف (آنتی بیوتیک، پروبیوتیک، عصاره گیاهی و ویتامین C) در آب آشامیدنی را بر تغییرات ضریب تبدیل خوراک جوجه گوشتی بررسی کردند. نتایج نشان داد آب آشامیدنی همراه با ۰/۱ گرم بر لیتر از ویتامین C یا ۲/۵ میلی‌لیتر در لیتر از عصاره *Echinacea purpurea* به مدت ۴ روز بعد از هر واکسیناسیون جوجه گوشتی، ضریب تبدیل خوراک را به ۲/۱۳ در روز ۴۲ رساند درحالی‌که ضریب تبدیل خوراک گروه شاهد ۲/۲۴ بود (Nosrati et al, 2017). کریمی ترشیزی و همکاران نشان دادند

که مصرف مخلوطی از پروبیوتیک‌ها به میزان ۰/۵ گرم بر لیتر در آب آشامیدنی نسبت به ۱ گرم بر کیلوگرم ماده غذایی سبب افزایش وزن روزانه ۲ گرم به ازای هر پرنده شد و همچنین ۴/۷ درصد کاهش در ضریب تبدیل خوراک در اثر تیمار با آب نسبت به غذا مشاهده شد. بنابراین مکمل‌دهی از طریق آب در بسیاری از شرایط، مؤثرتر و کاربردی‌تر از جیره غذایی است. در شرایط استرس حرارتی، بیماری یا انتقال گله که مصرف خوراک کاهش می‌یابد، مصرف آب معمولاً حفظ می‌شود و مکمل‌دهی از طریق آب، مؤثرتر عمل می‌کند (Karimi Torshizi, Moghaddam, Rahimi, & Mojgani, 2010; Soumeh, Cedeno, Niknafs, Bromfield, & Hoffman, 2021). در یک پژوهش اثر پروبیوتیک‌های مختلف به میزان ۱ درصد در آب آشامیدنی بر روی جوجه گوشتی بررسی شد. نتایج نشان داد که در دوره ۱ تا ۴۲ روزگی پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم میزان ضریب تبدیل خوراک را نسبت به کنترل ۸/۲ درصد کاهش و میانگین وزن روزانه را ۱۶ درصد افزایش داد (Zhang et al, 2021).

در پژوهش انجام شده توسط کاواشیما و همکاران در سال ۲۰۱۸، نتایج نشان داد استفاده از پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش عمدتاً از طریق تولید اینترلوکین-۱۰ موکوسی باعث افزایش ترشح IgA در مخاط و در نتیجه دفاع قوی‌تر میزبان در برابر پاتوژن‌ها می‌شوند (Kawashima et al, 2018). به عبارتی اثرات مفید پروبیوتیک به عنوان یک مکمل تغذیه ای شناخته شده در اثر تولید اینترلوکین-۱۰ مخاطی در روده اعمال خواهد شد. بنابراین احتمالاً فراهم آوری این سایتوکاین در گروه‌های Cyto10 و Cyto20 به صورت آشامیدنی در محیط دستگاه گوارش توانسته است اثرات شبیه به پروبیوتیک را داشته باشد کمااینکه این مشاهدات در نتایج مربوط به ضریب تبدیل خوراک و عملکرد رشد نیز مشاهده گردید. همراستا با این نتایج، پژوهش‌هایی که در تایید استفاده از اینترلوکین-۱۰ به عنوان بهبود دهنده شرایط تغذیه‌ای حیوان می‌توان به آن اشاره کرد نیز شامل مطالعات زیر می‌باشد: در پژوهشی که توسط وینتر و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام شد، برای بررسی اثرات IL-10 موکوسی این محققان موش تراریختی ساختند که در این موش بیان IL-10 به صورت اختصاصی در سلول‌های اپیتلیال روده نسبت به موش وحشی چندین برابر بود (Dewinter et al, 2002). لذا این موش‌ها نسبت به موش‌های وحشی میزان بالاتری از IL-10 موکوسی را به صورت پیوسته در هر سه بخش روده یعنی ایلئوم، ژژنوم و سکوم تولید می‌کردند. نتایج بررسی عملکرد افزایش بیان و ترشح IL-10 موکوسی در این موش‌ها حاکی از آن بود این افزایش بیان اینترلوکین-۱۰ موکوسی اثرات معنی‌داری در افزایش تعداد لنفوسیت‌های موجود در لایه اپیتلیال روده ای و لنفوسیت‌های داخل لامینا پروپریا در نتیجه کاهش بیان سایتوکاین‌های التهاب‌زا همچون اینترفرون گاما^۷ و TNF- α داشتند. این اثرات به صورت غیر مستقیم باعث افزایش پایداری قطر مخاط روده و همچنین استحکام سلول‌های روده شد. از طرفی نتایج این تحقیق نشان داد افزایش بیان IL-10 موکوسی به صورت پایدار در روده موش‌های تراریخت باعث افزایش سلول‌های B تولید کننده ایمونوگلوبولین A ترشحی (sIgA) شد. این امر باعث افزایش ترشح sIgA در مخاط روده و در نتیجه افزایش قدرت سیستم ایمنی مخاطی موش‌های تراریخت در مقابل موش‌های وحشی شد. همچنین در پژوهشی، محققان نشان دادند مصرف خوراکی باکتری نو ترکیب لاکتوکوکوس لاکتیس که توانایی تولید ترشح IL-10 انسانی را داشت توانست به خوبی بیماری تورم روده را در موش‌هایی که ژن تولید کننده IL-10 در آن‌ها حذف شده بود درمان کند. این نتایج نیز حاکی از این بود که فراهم آوری هدفمند و منطقه ای IL-10 موکوسی می‌تواند اثرات مطلوبی در ارتقاء سلامت روده و سیستم ایمنی مخاطی داشته باشد (Steidler et al, 2000).

به طور کلی طبق ارزیابی مطالعات پیشین، میزان تولید و ترشح IL-10 موکوسی در دستگاه گوارش و لایه مخاطی بسیار پائین است، به نحوی که حتی بعضی از گزارشات حاکی از عدم توانایی در تشخیص این سایتوکاین در بافت روده می‌باشد ولی همین میزان بسیار محدود برای حفظ سلامت مخاطی روده کافی است (Steidler et al, 2000). به عبارتی

⁷ Interferon gamma (IFN- γ)

احتمالاً سایتوگارد توانسته است با فراهم آوری مناسب اینترلوکین-۱۰ در محیط دستگاه گوارش اثرات تنظیم کننده التهابی داشته باشد که این خود احتمالاً باعث بهبود شرایط هضم و جذب دستگاه گوارش و رشد بهتر فلور میکروبی روده و در نتیجه بهینه سازی ضریب تبدیل خوراک و عملکرد رشد شود. همچنین نتایج بدست آمده نشان داد عملکرد سایتوگارد به نحو قابل توجهی وابسته به دز اینترلوکین-۱۰ به عنوان ماده موثره می باشد. به نحوی که مشاهده شد در دزهای بالا (cyto80) اثرات معکوس بر عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک داشته است. این امر احتمالاً به خاطر سرکوب سیستم ایمنی روده در این دز بوده که خود احتمالاً باعث افزایش میزان التهاب خواهد شد. الگوی تغییرات افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک گروه Cyto20 به عنوان گروه برتر در مقایسه با کنترل و پروبیوتیک تجاری در طی ۴۲ روز در شکل ۲ نشان داده است.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر مصرف خوراک، افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک و شاخص تولید اروپایی در جوجه های گوشتی طی ۱ تا ۴۲ روز

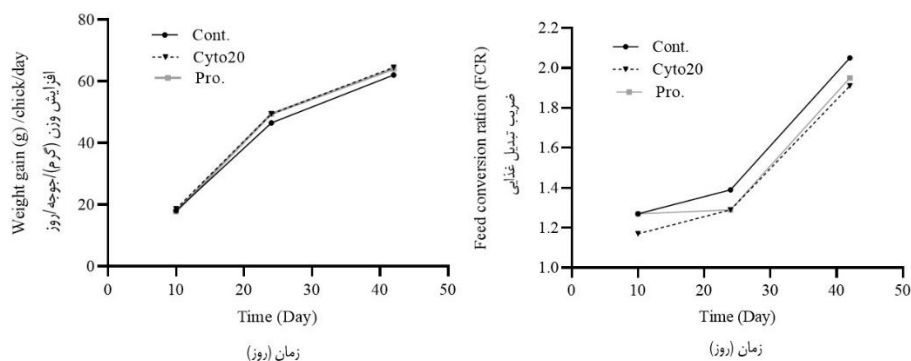
Table 3. Effects of the experimental treatments on feed intake, body weight gain and feed conversion ratio in broiler chickens during 1-42 days

دوره پرورش/تیمار	Cont.	Cyto0	Cyto10	Cyto20	Cyto80	Prob.	SEM	P value
مصرف خوراک روزانه (Feed intake)								
دوره آغازین Starter	22.87	21.58	22.85	21.70	23.09	22.41	1.26	0.345
دوره رشد Grower	64.78	64.39	65.66	63.85	66.11	63.57	2.90	0.438
دوره پایانی Finisher	127.61	128.80	127.37	123.16	129.50	124.78	5.78	0.316
کل دوره Total period	97.94	97.23	96.88	95.40	96.86	95.66	3.15	0.221
افزایش وزن روزانه (Body weight gain)								
دوره آغازین Starter	18.05	16.69	18.51	18.62	17.75	17.74	1.58	0.421
دوره رشد Grower	46.50 ^b	45.87 ^b	48.55 ^a	49.44 ^a	45.47 ^b	49.44 ^a	1.48	0.041
دوره پایانی Finisher	62.05	62.98	63.13	64.49	61.60	64.05	2.18	0.315
کل دوره Total period	51.78 ^b	52.00 ^b	53.20 ^{ab}	55.91 ^a	51.37 ^b	55.23 ^a	1.61	0.021
ضریب تبدیل خوراک (FCR)								
دوره آغازین Starter	1.27 ^{ab}	1.29 ^{ab}	1.24 ^{ab}	1.17 ^a	1.31 ^b	1.27 ^{ab}	0.04	0.045
دوره رشد Grower	1.39	1.37	1.35	1.29	1.39	1.29	0.05	0.215
دوره پایانی Finisher	2.05 ^{ab}	2.05 ^{ab}	2.02 ^{ab}	1.91 ^a	2.10 ^b	1.95 ^a	0.05	0.031
کل دوره Total period	1.90 ^b	1.82 ^{ab}	1.82 ^{ab}	1.71 ^a	1.89 ^b	1.73 ^a	0.04	0.022
شاخص تولید اروپایی (EPEF)								
کل دوره Total period	252.3 ^b	285.8 ^b	298.27 ^b	333.12 ^a	254.54 ^b	325.01 ^a	13.91	0.031

^{a, b} میانگین ها با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی دار می باشند. تفاوت میانگین ها در سطح احتمال کمتر از ۵ درصد به عنوان معنی دار گزارش شده اند ($p < 0.05$).
 Cont. (آب معمولی)، Cyto0 (سایتوگارد بدون ماده موثره)، Cyto10 (۱۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Cyto20 (۲۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Cyto80 (۸۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Pro. (پروبیوتیک تجاری پریمالاک با دز پیشنهادی)

^{a, b} Means within a row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$). Differences in means were reported as significant at a probability level of less than 5 percent ($p < 0.05$).

Cont. (Regular water), Cyto0 (CytoGard without active ingredient), Cyto10 (10 ng/L of the active ingredient), Cyto20 (20 ng/L of the active ingredient), Cyto80 (80 ng/L of the active ingredient), Pro (Commercial probiotic PrimaLac at the recommended dose)



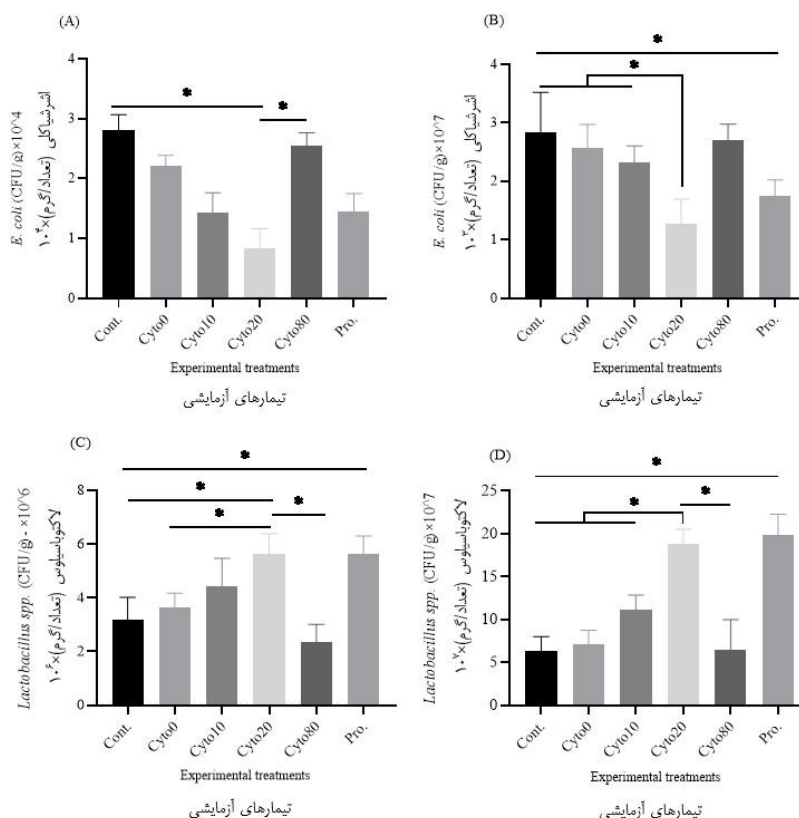
شکل ۲- تغییرات افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک (FCR) در دوره ۱ تا ۴۲ روزگی. Cont. (آب معمولی)، Cyto20 (۲۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Pro. (پروبیوتیک تجاری پریمالاک با دز پیشنهادی)

Figure 2- Changes in daily weight gain and feed conversion ratio (FCR) during 1-42 days. Cont. (Regular water), Cyto20 (20 ng/L of the active ingredient), Pro (Commercial probiotic PrimaLac at the recommended dose)

سایتوگارد در تنظیم جمعیت میکروبی روده

اشرشیاکلی یک باکتری گرم منفی است که به طور طبیعی در روده حیوانات حضور دارد، اما برخی سویه‌های آن می‌توانند بیماری‌زا و موجب آسیب به عملکرد رشد، سلامت و ایمنی طیور شوند. یکی از اهداف مهم در صنعت طیور کاهش تعداد این باکتری می‌باشد (Kathayat, Lokesh, Ranjit, & Rajashekara, 2021).

نتایج بررسی کشت میکروبی از محتویات هضمی ایلئوم روده نشان داد که تعداد باکتری اشرشیاکلی در گروه Cyto20 کاهش معنی‌داری را نسبت به کنترل نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۳ قسمت A). این کاهش نشان‌دهنده اثر مثبت تیمار مورد استفاده در این گروه در مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد. در محتویات هضمی سکوم روده نیز تعداد باکتری اشرشیاکلی در این گروه نسبت به سایر تیمارهای سایتوگارد کاهش معنی‌داری را نسبت به کنترل نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۳ قسمت B). افزایش غلظت سایتوگارد تا ۸۰ نانوگرم تأثیری در کاهش رشد اشرشیاکلی در محتویات هضمی روده ایلئوم و سکوم نسبت به گروه شاهد نداشت. تعداد باکتری اشرشیاکلی در گروه پروبیوتیک نسبت به کنترل کاهش یافت و این کاهش در سکوم معنی‌دار بود ($P < 0.05$). تعداد باکتری اشرشیاکلی در پروبیوتیک نسبت به Cyto20 افزایش نشان داد اما این افزایش معنی‌دار نبود.



شکل ۳- شمارش اشرشیاکلی در محتویات هضمی ایلئوم (A) و سکوم (B) و شمارش لاکتوباسیلوس در محتویات هضمی ایلئوم (C) و سکوم (D). Cont. (آب معمولی)، Cyto0 (سایتوگارد بدون ماده موثره)، Cyto10 (۱۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Cyto20 (۲۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Cyto80 (۸۰ نانوگرم/لیتر از ماده موثره)، Pro. (پروبیوتیک تجاری پریمالاک با دز پیشنهادی). میانگین همراه با SD در هر ستون آورده شده است. تفاوت معنی داری آماری با $p \leq 0.05$ * نشان داده شده است.

Figure 3- Counts of *Escherichia coli* in ileal (A) and cecal (B) contents, and *Lactobacillus* counts in ileal (C) and cecal (D) contents. Cont. (Regular water), Cyto0 (CytoGard without active ingredient), Cyto10 (10 ng/L of the active ingredient), Cyto20 (20 ng/L of the active ingredient), Cyto80 (80 ng/L of the active ingredient), Pro (Commercial probiotic PrimaLac at the recommended dose). The mean $\pm$ SD is given in each column. Statistical significance differences are indicated by $*p \leq 0.05$.

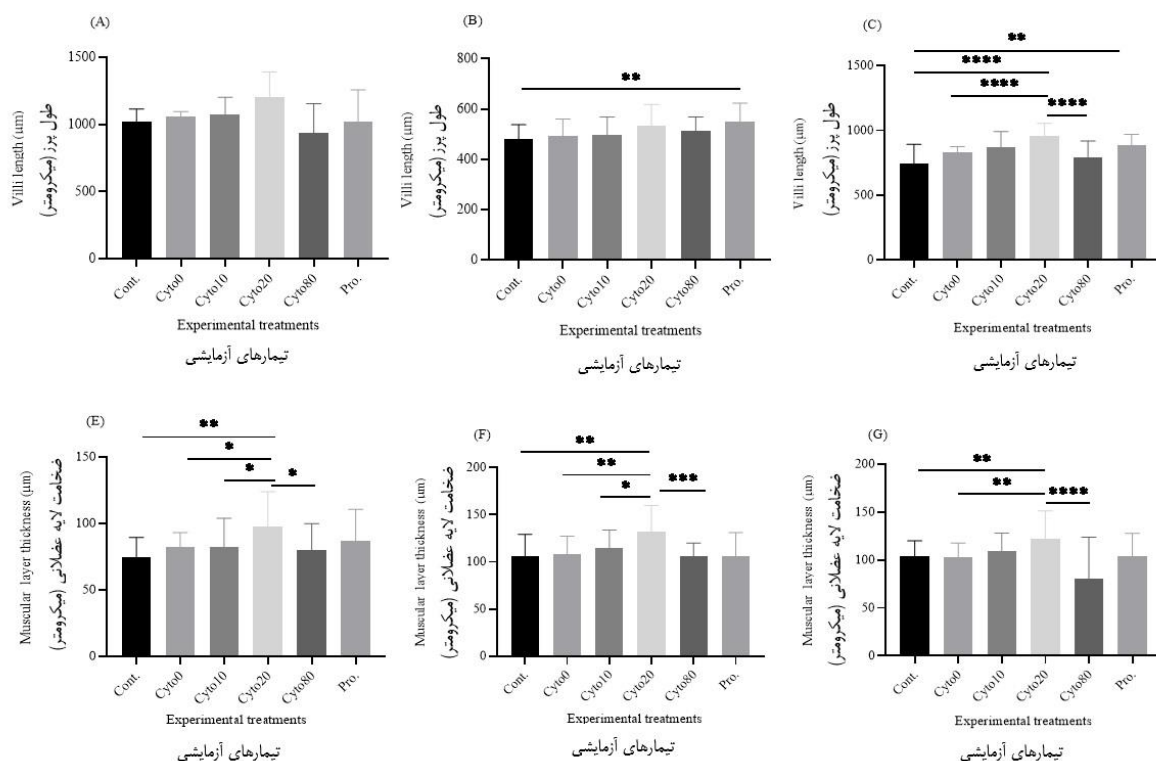
ایلئوم در جذب مواد مغذی و تنظیم ترکیب میکروبی نقش کلیدی دارد. حضور باکتری‌های سودمند در این قسمت با تولید اسید لاکتیک و پایین آوردن pH مانع رشد باکتری‌های پاتوژن می‌شود. همچنین این باکتری‌ها با عوامل پاتوژن برای اتصال به سلول‌های اپیتلیال رقابت می‌کنند و سبب تحریک سیستم ایمنی و افزایش ایمونوگلوبولین A می‌شوند. به طور کلی در جوجه‌های گوشتی، افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها سبب تعادل میکروبیوم، بهبود هضم، جذب بهتر مواد مغذی و رشد مطلوب و کاهش بیماری‌های گوارشی می‌شود (Mountzouris et al, 2010; Apajalahti, Kettunen, & Graham, 2004). نتایج شمارش تعداد لاکتوباسیلوس در محتویات هضمی ایلئوم و سکوم در شکل ۳ (قسمت C و D) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در ایلئوم و سکوم تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در گروه Cyto20 نسبت به کنترل، گروه Cyto0 و Cyto80 معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بنابراین مصرف پیوسته غلظت ۲۰ نانوگرم بر لیتر از سایتوگارد در دوره ۴۲ روز سبب تعادل فلور میکروبی روده شد. تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در گروه Prob. نیز در ایلئوم و سکوم افزایش معنی‌دار نسبت به کنترل نشان داد. در پژوهشی استفاده از ۱ درصد پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در آب آشامیدنی سبب افزایش موثر لاکتوباسیلوس و کاهش اشرشیاکلی در محتویات هضمی روده شد (Zhang et al, 2021). در یک پژوهش، لاکتوکوکوس لاکتیس نو ترکیب بیان‌کننده پپتیدهای لاکتوفرین به رژیم غذایی جوجه اضافه شد. این سویه سبب کاهش معنی‌دار اشرشیاکلی و افزایش لاکتوباسیلوس شد (Li et al, 2025). مطالعات دیگری نیز نشان دادند که

پروبیوتیک‌ها بر جمعیت میکروبی روده تاثیر مثبت می‌گذارند و سبب افزایش لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم می‌شوند (Song et al, 2014). بنابراین سایتوگارد در غلظت‌های بهینه در کاهش رشد باکتری‌های پاتوژن و افزایش باکتری‌های سودمند تاثیر زیادی دارد، اما افزایش غلظت سایتوگارد تا ۸۰ نانوگرم بر لیتر سبب کاهش جزئی تعداد اشرشیاکلی شد اما تعداد لاکتوباسیلوس‌ها کمتر از کنترل بود. احتمالاً در دزهای پایین سایتوگارد پاسخ‌های ضدالتهابی ناشی از ماده موثره اینترلوکین-۱۰ باعث کاهش شرایط التهابی روده شده که خود باعث جلوگیری از رشد پاتوژن‌ها می‌شود. همان‌طور که در مطالعات قبلی اشاره شده است شرایط التهابی روده باعث ضعف سیستم ایمنی روده در مواجهه با پاتوژن‌ها شده که این امر شرایط را برای رشد پاتوژن‌ها فراهم می‌آورد (Kogut & Arsenault, 2016). بنابراین سایتوگارد احتمالاً با اثرات تنظیم‌کننده التهاب در دزهای مناسب باعث مهار رشد پاتوژن‌ها می‌شود و متعاقباً در این شرایط باکتری‌های سودمند فرصت بیشتری برای رشد خواهند داشت. نتایج بدست آمده از این قسمت تأییدکننده نتایج بهبود عملکرد رشد در اثر استفاده از سایتوگارد نیز می‌باشد. به نحوی که افزایش فلور مفیدی همچون لاکتوباسیل‌ها در دستگاه گوارش باعث افزایش تولید اسیدلاکتیک و در نتیجه بهبود راندمان هضم و جذب در این شرایط خواهد شد (Salim et al, 2013; Mountzouris et al, 2007).

اثرات سایتوگارد بر ریخت‌شناسی بافت روده

افزایش طول ویلی در روده سبب افزایش سطح جذب روده، افزایش راندمان خوراک، افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی در سطح ویلی می‌شود. همچنین لایه عضلانی روده مسئول حرکات دودی (peristalsis) برای هدایت خوراک و مخلوط کردن آن با آنزیم‌ها است. افزایش قطر عضله روده سبب افزایش توان حرکتی و تخلیه بهتر مواد، تقویت ساختار مکانیکی روده، کمک به بهبود زمان عبور خوراک (digesta transit time) که در جذب بهتر مواد مغذی مؤثر است، می‌شود (Awad, Ghareeb, Abdel-Raheem, & Böhm, 2009). نتایج اندازه‌گیری طول ویلی در مقاطع دئودنوم، ایلئوم و ژژنوم نشان داد که گروه Cyto20 بالاترین طول ویلی را بین سایر گروه‌های سایتوگارد نشان داد (شکل ۴ قسمت A-C). این افزایش در مقاطع دئودنوم و ایلئوم نسبت به کنترل و Cyto0 معنی‌دار نبود، اما این افزایش در مقطع ژژنوم نسبت به کنترل، Cyto0 و Cyto80 معنی‌دار بود ($P < 0.001$). طول ویلی در گروه پروبیوتیک در مقاطع ایلئوم و ژژنوم نسبت به کنترل معنی‌دار بود ($P < 0.01$). در مطالعات پیشین نیز تأثیرات مفید مکمل‌های خوراکی از جمله پروبیوتیک‌ها بر افزایش رشد میکروویلی‌ها گزارش شده است (Yurong, Ruiping, ShiMin, & Yibao, 2005; Park et al, 2016). نتایج این مطالعات حاکی از این است که احتمالاً پروبیوتیک‌ها با فراهم‌آوری فاکتورهای رشد و کاهش شرایط التهابی روده این اثرات را به دنبال خواهند داشت. در این خصوص لی و همکاران نشان دادند که مصرف پروبیوتیک‌هایی همچون باسیلوس کوآگولانس بیشترین بهبود را در پارامترهای مورفومتریک روده ایجاد می‌کند (Li et al, 2019). همچنین آلاگوانی و همکاران در سال ۲۰۱۸ (Alagawany et al, 2018) نشان دادند پروبیوتیک‌های حاوی گونه‌های لاکتوباسیلوس از جمله لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم ترموفیلوم و انتروکوکوس فاسیوم طول پرزها را بهبود بخشیده و عمق کریپت را در ژژنوم کاهش داد. با این حال، استفاده از لاکتوباسیلوس جانسونی از طریق خوراک، آب یا بستر، مورفولوژی ایلئوم پرندگان را در روزهای ۷ و ۲۱ تغییر نداد (Olnood, Beski, Iji, & Choct, 2015). اثرات مکمل سایتوگارد بر روی رشد میکروویلی‌های روده احتمالاً میتواند به دلیل کاهش شرایط التهابی روده باشد، به نحوی که احتمالاً سلول‌های زایای اپیتلیال روده به جای صرف انرژی در مقابله با التهابات مزمن دستگاه گوارش، این انرژی را معطوف به رشد و توسعه پرزهای روده کرده که این امر خود باعث افزایش قدرت جذب مواد مغذی خواهد شد (Peterson & Artis, 2014). از طرفی نتایج شمارش فلور میکروبی در ایلئوم و سکوم نیز شاید بتواند تکمیل‌کننده این پازل باشد. به نحوی که افزایش رشد فلور مفید در دستگاه گوارش و تولید متابولیت‌های مفید در روده احتمالاً

خود اثرات تحریک کننده رشد میکروویلی ها را خواهد داشت (Guilloteau et al 2010 ; Severino et al, 2024). از طرفی دیگر کاهش پاتوژن ها خود باعث فراهم آوری محیط مناسب تر برای رشد سلول ها و در نتیجه هم افزائی رشد میکروویلی ها را به دنبال خواهد داشت.



شکل ۴- اثرات سایتوگارد بر طول ویلی در مقاطع دئودنوم (A)، ایلئوم (B) و ژژنوم (C) و ضخامت لایه عضلانی در دئودنوم (D)، ایلئوم (E) و ژژنوم (F) و ژژنوم (G) در روز ۴۲. Cont. (آب معمولی)، Cyto0 (سایتوگارد بدون ماده مؤثره)، Cyto10 (۱۰ نانوگرم/لیتر از ماده مؤثره)، Cyto20 (۲۰ نانوگرم/لیتر از ماده مؤثره)، Cyto80 (۸۰ نانوگرم/لیتر از ماده مؤثره)، Pro. (پروبیوتیک تجاری پریمالاک با دز پیشنهادی). میانگین همراه با SD در هر ستون آورده شده است. تفاوت معنی داری آماری با $p \leq 0.05$ ، $p \leq 0.01$ ، $p \leq 0.001$ و $p \leq 0.0001$ نشان داده شده است.

Figure 4- Effects of CytoGard on villus length in the duodenum (A), ileum (B), and jejunum (C), and on muscular layer thickness in the duodenum (D), ileum (E), and jejunum (F) and jejunum (G) on day 42. Cont. (Regular water), Cyto0 (CytoGard without active ingredient), Cyto10 (10 ng/L of the active ingredient), Cyto20 (20 ng/L of the active ingredient), Cyto80 (80 ng/L of the active ingredient), Pro (Commercial probiotic PrimaLac at the recommended dose). The mean with SD is given in each column. The mean $\pm$ SD is given in each column. Statistical significance differences are indicated by $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.0001$

یکی از شاخص های مهم سلامت روده در طیور، افزایش ضخامت لایه عضلانی روده است. نتایج نشان داد که مصرف سایتوگارد در غلظت های ۲۰ نانوگرم بر لیتر در همه مقاطع دئودنوم، ایلئوم و ژژنوم سبب افزایش معنی داری در ضخامت لایه عضلانی نسبت به گروه های کنترل، Cyto0 و Cyto80 شد (شکل ۴ قسمت E-G). به علاوه این افزایش در مقطع دئودنوم و ایلئوم نسبت به Cyto10 نیز معنی دار بود. این تغییرات نشانگر بهبود کارایی مکانیکی روده در انجام حرکات دودی، بهبود اختلاط و جابه جایی محتویات روده و افزایش سطح تماس مواد مغذی با اپیتلیوم جذبی می باشد. این ویژگی در دوره های پرورش فشرده جوجه های گوشتی که رشد سریع و تغذیه پرانرژی دارند، اهمیت بیشتری می یابد. این نتایج منطبق با نتایج قبلی است که در غلظت ۲۰ نانوگرم بر لیتر سایتوگارد میزان FCR کمترین مقدار در بین گروه ها بود. مطالعات قبلی نیز نشان داده اند که مکمل های تغذیه ای مؤثر، از جمله پروبیوتیک ها می توانند موجب افزایش ضخامت لایه عضلانی شده و در نتیجه به بهبود عملکرد رشد، کاهش اختلالات گوارشی و پیشگیری از بیماری های روده ای کمک

نمایند (Li et al, 2020). بنابراین، یافته‌های حاضر نیز با تأیید نتایج مطالعات پیشین، نقش مهم تیمارهای بیولوژیک در بهبود ساختار بافتی روده جوجه‌ها را برجسته می‌سازد.

اثر سایتوگارد بر تعداد سلول‌های خونی و تیترا آنتی بادی

شمارش سلول‌های خونی در تیمارهای مختلف نشان داد که سایتوگارد در هیچ یک از غلظت‌ها سبب تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از فاکتورها نسبت به کنترل نشد (جدول ۱ فایل پیوست). این موضوع نشان می‌دهد که سایتوگارد در غلظت‌های مختلف در ایمنی پایه جوجه‌ها تأثیری نداشته و با وجودی که اینترلوکین-۱۰ به عنوان یک سایتوکاین ضدالتهابی عمل می‌کند، باعث اختلال یا تضعیف پاسخ ایمنی طبیعی جوجه‌ها نشده است. همچنین تیترا آنتی بادی در برابر آنفلوانزا و نیوکاسل نیز تغییری بین گروه‌های تیمار شده با شاهد نشان نداد (جدول ۲ فایل پیوست). احتمالاً عدم تأثیرات سایتوگارد بر روی سیستم ایمنی هومورال به خاطر این باشد که اثرات اینترلوکین-۱۰ در هنگام مصرف خوراکی عمدتاً به صورت ایمنی مخاطی اعمال خواهد شد و روی مسیرهای ایمنی خونی تأثیری نخواهد داشت (Nguyen et al, 2021).

نتیجه گیری

سایتوگارد به عنوان یک مکمل آشامیدنی در غلظت بهینه ۲۰ نانوگرم بر لیتر اثرات مثبت و قابل توجهی در افزایش وزن، بهبود ضریب تبدیل خوراک و افزایش شاخص تولید اروپایی نشان داد. همچنین این محصول سبب کاهش رشد باکتری‌های پاتوژن و افزایش باکتری‌های سودمند لاکتوباسیلوس شد که این امر به تثبیت فلور میکروبی، افزایش رقابت زیستی و ارتقاء عملکرد سیستم ایمنی کمک می‌کند. علاوه بر این سایتوگارد با افزایش طول ویلی و افزایش قطر عضله در روده کوچک سبب افزایش سطح جذب مواد مغذی و ارتقاء بازده تغذیه‌ای می‌شود. بنابراین احتمالاً مصرف پیوسته سایتوگارد دارای ماده موثره‌ی اینترلوکین-۱۰، در طول دوره پرورش با تعدیل پاسخ‌های ایمنی و تنظیم التهاب‌های زمینه‌ای در روده، موجب افزایش بهره‌وری تغذیه‌ای در طیور می‌شود.

منابع

1. Abd El-Ghany WA, Abdel-Latif MA, Hosny F, Alatfeehy NM, Noreldin AE, Quesnell RR, Chapman R, Sakai L, Elbestawy AR. Comparative efficacy of postbiotic, probiotic, and antibiotic against necrotic enteritis in broiler chickens. *Poultry science*. 2022 Aug 1;101(8):101988. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101988>
2. Adaszyńska-Skwirzyńska, M., Konieczka, P., Bucław, M., Majewska, D., Pietruszka, A., Zych, S., & Szczerbińska, D. (2025). Analysis of the production and economic indicators of broiler chicken rearing in 2020–2023: a case study of a Polish farm. *Agriculture*, 15(2), 139. <https://doi.org/10.3390/agriculture15020139>
3. Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Farag, M. R., Sachan, S., Karthik, K., & Dhama, K. (2018). The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 10611-10618. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1687-x>
4. Al-jorani, J. K., Razmyar, J., Haghparst, A., Hajiabadi, S., Sekhavati, M. H. (In press). Production of Recombinant Chicken IL-10 in *Bacillus Subtilis*: Assessment of in vitro Biological Activity and Immunoregulatory Properties. *Biotechnology and Applied Biochemistry*.

5. Almon, E., Shaaltiel, Y., Sbeit, W., Fich, A., Schwartz, D., Waterman, M., ... & Ilan, Y. (2021). Novel orally administered recombinant anti-TNF alpha fusion protein for the treatment of ulcerative colitis: results from a phase 2a clinical trial. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 55(2), 134-140. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001314>
6. Apajalahti, J., Kettunen, A., & Graham, H. (2004). Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World's Poultry Science Journal*, 60(2), 223-232. <https://doi.org/10.1079/WPS200415>
7. Arendt, M. K., Sand, J. M., Marccone, T. M., & Cook, M. E. (2016). Interleukin-10 neutralizing antibody for detection of intestinal luminal levels and as a dietary additive in *Eimeria* challenged broiler chicks. *Poultry Science*, 95(2), 430-438. <https://doi.org/10.3382/ps/pev365>
8. Arsène, M. M. J., Davares, A. K. L., Viktorovna, P. I., Andreevna, S. L., Sarra, S., Khelifi, I., & Sergueïevna, D. M. (2022). The public health issue of antibiotic residues in food and feed: Causes, consequences, and potential solutions. *Veterinary world*, 15(3), 662. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.662-671>
9. Awad, W. A., Ghareeb, K., Abdel-Raheem, S., & Böhm, J. (2009). Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry science*, 88(1), 49-56. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00244>
10. Baggi, F., Andreetta, F., Caspani, E., Milani, M., Longhi, R., Mantegazza, R., Cornelio, F. and Antozzi, C. (1999). Oral administration of an immunodominant T-cell epitope downregulates Th1/Th2 cytokines and prevents experimental myasthenia gravis. *The Journal of clinical investigation*, 104(9), 1287-1295. <https://doi.org/10.1172/JCI7121>
11. Berg, D.J., Zhang, J., Weinstock, J.V., Ismail, H.F., Earle, K.A., Alila, H., Pamukcu, R., Moore, S. and Lynch, R.G. (2002). Rapid development of colitis in NSAID-treated IL-10-deficient mice. *Gastroenterology*, 123(5), 1527-1542. <https://doi.org/10.1053/gast.2002.1231527>
12. Bist, R.B., Bist, K., Poudel, S., Subedi, D., Yang, X., Paneru, B., Mani, S., Wang, D. and Chai, L. (2024). Sustainable poultry farming practices: A critical review of current strategies and future prospects. *Poultry Science*, 104295. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104295>
13. Carlini, V., Noonan, D.M., Abdalalem, E., Goletti, D., Sansone, C., Calabrone, L. and Albini, A. (2023). The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions. *Frontiers in immunology*, 14, 1161067. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1161067>
14. Couper, K. N., Blount, D. G., & Riley, E. M. (2008). IL-10: the master regulator of immunity to infection. *The Journal of Immunology*, 180(9), 5771-5777. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.9.5771>
15. De Winter, H., Elewaut, D., Turovskaya, O., Huflejt, M., Shimeld, C., Hagenbaugh, A., Binder, S., Takahashi, I., Kronenberg, M. and Cheroutre, H. (2002). Regulation of mucosal immune responses by recombinant interleukin 10 produced by intestinal epithelial cells in mice. *Gastroenterology*, 122(7), 1829-1841. <https://doi.org/10.1053/gast.2002.33655>
16. Frazzini, S., Riva, F., & Amadori, M. (2021). Therapeutic and prophylactic use of oral, low-dose ifns in species of veterinary interest: back to the future. *Veterinary Sciences*, 8(6), 109. <https://doi.org/10.3390/vetsci8060109>

17. Gariboldi, S., Palazzo, M., Zanobbio, L., Dusio, G.F., Mauro, V., Solimene, U., Cardani, D., Mantovani, M. and Rumio, C. (2009). Low dose oral administration of cytokines for treatment of allergic asthma. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 22(6), 497-510. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2009.05.002>
18. Ghebremicael, S. B., Hasenstein, J. R., & Lamont, S. J. (2008). Association of interleukin-10 cluster genes and Salmonella response in the chicken. *Poultry Science*, 87(1), 22-26. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00259>
19. Guilloteau, P., Martin, L., Eeckhaut, V., Ducatelle, R., Zabielski, R., & Van Immerseel, F. (2010). From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. *Nutrition research reviews*, 23(2), 366-384. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000247>
20. Huff, G. R., Huff, W. E., Jalukar, S., Oppy, J., Rath, N. C., & Packialakshmi, B. (2013). The effects of yeast feed supplementation on turkey performance and pathogen colonization in a transport stress/*Escherichia coli* challenge. *Poultry science*, 92(3), 655-662. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02787>
21. Huff, G. R., Huff, W. E., Rath, N. C., El-Gohary, F. A., Zhou, Z. Y., & Shini, S. (2015). Efficacy of a novel prebiotic and a commercial probiotic in reducing mortality and production losses due to cold stress and *Escherichia coli* challenge of broiler chicks. *Poultry Science*, 94(5), 918-926. <https://doi.org/10.3382/ps/pev068>
22. Hussain M, Aizpurua O, de Rozas AP, Paris N, Guivernau M, Jofré A, Tous N, Alberdi A, Rodríguez-Gallego E, Kogut MH, Tarradas J. Positive impact of early-probiotic administration on performance parameters, intestinal health and microbiota populations in broiler chickens. *Poultry Science*. 2024 Dec 1;103(12):104401. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104401>
23. Huyghebaert, G., Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2011). An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal*, 187(2), 182-188. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.03.003>
24. Idowu, P. A., Mpofu, T. J., Magoro, A. M., Modiba, M. C., Nephawe, K. A., & Mtileni, B. (2025). Impact of probiotics on chicken gut microbiota, immunity, behavior, and productive performance—a systematic review. *Frontiers in Animal Science*, 6, 1562527. <https://doi.org/10.3389/fanim.2025.1562527>
25. Karimi Torshizi, M. A., Moghaddam, A. R., Rahimi, S. H., & Mojgani, N. (2010). Assessing the effect of administering probiotics in water or as a feed supplement on broiler performance and immune response. *British poultry science*, 51(2), 178-184. <https://doi.org/10.1080/00071661003753756>
26. Kathayat, D., Lokesh, D., Ranjit, S., & Rajashekara, G. (2021). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC): an overview of virulence and pathogenesis factors, zoonotic potential, and control strategies. *Pathogens*, 10(4), 467. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040467>
27. Kawashima, T., Ikari, N., Kouchi, T., Kowatari, Y., Kubota, Y., Shimojo, N., & Tsuji, N. M. (2018). The molecular mechanism for activating IgA production by *Pediococcus acidilactici* K15 and the clinical impact in a randomized trial. *Scientific reports*, 8(1), 5065. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23404-4>
28. Khosravi, A., Boldaji, F., Dastar, B., Torshizi, M. A. K., Alemi, M., & Hoseinifar, S. H. (2025). A synbiotic improves performance and gut health in broiler chickens. *Scientific Reports*, 15(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-04459-6>

29. Kogut, M. H. (2009). Impact of nutrition on the innate immune response to infection in poultry. *Journal of applied poultry research*, 18(1), 111-124. <https://doi.org/10.3382/japr.2008-00081>
30. Kogut, M. H., & Arsenault, R. J. (2016). Gut health: The new paradigm in food animal production. *Frontiers in veterinary science*, 3, 71. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00071>
31. Kumar, H., Bhardwaj, I., Nepovimova, E., Dhanjal, D.S., Sana, S.S., Knop, R., Atuahene, D., Shaikh, A.M. and Béla, K. (2025). Revolutionising broiler nutrition: The role of probiotics, fermented products, and paraprobiotics in functional feeds. *Journal of Agriculture and Food Research*, 101859. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.101859>
32. Li, C.L., Wang, J., Zhang, H.J., Wu, S.G., Hui, Q.R., Yang, C.B., Fang, R.J. and Qi, G.H. (2019). Intestinal morphologic and microbiota responses to dietary *Bacillus* spp. in a broiler chicken model. *Frontiers in physiology*, 9, 1968. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01968>
33. Li, Q., Wan, G., Peng, C., Xu, L., Yu, Y., Li, L., & Li, G. (2020). Effect of probiotic supplementation on growth performance, intestinal morphology, barrier integrity, and inflammatory response in broilers subjected to cyclic heat stress. *Animal science journal*, 91(1), e13433. <https://doi.org/10.1111/asj.13433>
34. Li, Z., Wang, X., Zheng, D., Han, F., Li, Y., Zhou, H., ... & Tang, L. (2025). Oral-Delivery *Lactococcus lactis* expressing cherry fusion lactoferrin peptides against infection of avian pathogenic *Escherichia coli* in chickens. *Poultry Science*, 104(1), 104637. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104637>
35. Lillehoj, H. S., & Lee, K. W. (2012). Immune modulation of innate immunity as alternatives-to-antibiotics strategies to mitigate the use of drugs in poultry production. *Poultry science*, 91(6), 1286-1291. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02374>
36. Lowenthal, J. W., Lambrecht, B., van den Berg, T. P., Andrew, M. E., Strom, A. D. G., & Bean, A. G. (2000). Avian cytokines—the natural approach to therapeutics. *Developmental & Comparative Immunology*, 24(2-3), 355-365. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(99\)00083-X](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(99)00083-X)
37. Lutful Kabir, S. M. (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. <https://doi.org/10.3390/ijerph7010089>
38. Marinaro, M., Boyaka, P. N., Jackson, R. J., Finkelman, F. D., Kiyono, H., Jirillo, E., & McGhee, J. R. (1999). Use of intranasal IL-12 to target predominantly Th1 responses to nasal and Th2 responses to oral vaccines given with cholera toxin. *The Journal of Immunology*, 162(1), 114-121. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.162.1.114>
39. Mazzon, E., Puzzolo, D., Caputi, A. P., & Cuzzocrea, S. (2002). Role of IL-10 in hepatocyte tight junction alteration in mouse model of experimental colitis. *Molecular Medicine*, 8, 353-366. <https://doi.org/10.1007/BF03402016>
40. Meunier, D., Corona-Torres, R., Boulton, K., Wu, Z., Ballantyne, M., Glendinning, L., ... & Hume, D. A. (2025). Interleukin 10 controls the balance between tolerance, pathogen elimination and immunopathology in birds. *bioRxiv*, 2025-01. <https://doi.org/10.1101/2025.01.10.632125>

41. Mottet, A., & Tempio, G. (2017). Global poultry production: current state and future outlook and challenges. *World's poultry science journal*, 73(2), 245-256. <https://doi.org/10.1017/S0043933917000071>
42. Mountzouris, K. C., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., Nitsch, S., Schatzmayr, G., & Fegeros, K. (2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry science*, 86(2), 309-317. <https://doi.org/10.1093/ps/86.2.309>
43. Mountzouris, K. C., Tsirtsikos, P., Palamidi, I., Arvaniti, A., Mohnl, M., Schatzmayr, G., & Fegeros, K. (2010). Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. *Poultry science*, 89(1), 58-67. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00308>
44. Mughini, L. (2000). Effects of interferon alpha administered by peroral route on lymphomonocytes' subpopulations of peripheral blood in healthy volunteers. *La Clinica Terapeutica*, 151(1 Suppl 1), 3-12.
45. Nam, T. V. B., Anh, L. H., Loc, H. T., Trang, C. T. H., Thiet, N., Lan, L. T. T., ... & Ngu, N. T. (2022). Effects of probiotic (*Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis*) supplementation on mortality, growth performance, and carcass characteristics of native Vietnamese broilers challenged with *Salmonella Typhimurium*. *Veterinary World*, 15(9), 2302. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.2302-2308>
46. Nguyen, H. D., Aljamaei, H. M., & Stadnyk, A. W. (2021). The production and function of endogenous interleukin-10 in intestinal epithelial cells and gut homeostasis. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 12(4), 1343-1352. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2021.07.005>
47. Nosrati, M., Javandel, F., Camacho, L. M., Khusro, A. M. E. E. R., Cipriano, M., Seidavi, A., & Salem, A. Z. M. (2017). The effects of antibiotic, probiotic, organic acid, vitamin C, and *Echinacea purpurea* extract on performance, carcass characteristics, blood chemistry, microbiota, and immunity of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 26(2), 295-306. <https://doi.org/10.3382/japr/pfw073>
48. Olnood, C. G., Beski, S. S., Iji, P. A., & Choct, M. (2015). Delivery routes for probiotics: Effects on broiler performance, intestinal morphology and gut microflora. *Animal Nutrition*, 1(3), 192-202. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.07.002>
49. Oshima, T., Laroux, F.S., Coe, L.L., Morise, Z., Kawachi, S., Bauer, P., Grisham, M.B., Specian, R.D., Carter, P., Jennings, S. and Granger, D.N. (2001). Interferon- γ and interleukin-10 reciprocally regulate endothelial junction integrity and barrier function. *Microvascular research*, 61(1), 130-143. <https://doi.org/10.1006/mvre.2000.2288>
50. Ouyang, W., Rutz, S., Crellin, N. K., Valdez, P. A., & Hymowitz, S. G. (2011). Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual review of immunology*, 29(1), 71-109. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101312>
51. Owusu-Doubreh, B., Appaw, W. O., & Abe-Inge, V. (2023). Antibiotic residues in poultry eggs and its implications on public health: a review. *Scientific African*, 19, e01456. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01456>
52. Park, Y.H., Hamidon, F., Rajangan, C., Soh, K.P., Gan, C.Y., Lim, T.S., Abdullah, W.N.W. and Liong, M.T. (2016). Application of probiotics for the production of safe and high-

- quality poultry meat. *Korean journal for food science of animal resources*, 36(5), 567. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.5.567>
53. Patterson, J. A., & Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry science*, 82(4), 627-631. <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.627>
 54. Pedretti, E., Passeri, B., Amadori, M., Isola, P., Di Pede, P., Telera, A., Vescovini, R., Quintavalla, F. and Pistello, M. (2006). Low-dose interferon- α treatment for feline immunodeficiency virus infection. *Veterinary immunology and immunopathology*, 109(3-4), 245-254. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.08.020>
 55. Peterson, L. W., & Artis, D. (2014). Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nature reviews immunology*, 14(3), 141-153. <https://doi.org/10.1038/nri3608>
 56. Polman, C., Barkhof, F., Kappos, L., Pozzilli, C., Sandbrink, R., Dahlke, F., Jakobs, P., Lorenz, A. Oral Interferon Beta-1a in Relapsing-Remitting MS Study Group. (2003). Oral interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: a double-blind randomized study. *Multiple Sclerosis Journal*, 9(4), 342-348. <https://doi.org/10.1191/1352458503ms923oa>
 57. Qazi MA, Khan EU, Naveed S, Mehmood S, Muneeb M, Talha M, Shaheen MS, Ahmad S. Effect of Bioactive Peptides and Encapsulated Butyric Acid on Growth Performance, Gut Health, Immune Status and Nutrient Digestibility in Broiler Chickens. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 2025 Nov;31(6):1-3. <https://doi.org/10.1007/s10989-025-10761-8>
 58. Rasheed, M.A., Tiwari, U.P., Oelschlager, M.L., Smith, B.N., Jespersen, J.C., Escobar, J., Olmeda-Geniec, N. and Dilger, R.N. (2020). Dietary supplementation with anti-IL-10 antibody during a severe Eimeria challenge in broiler chickens. *Poultry science*, 99(12), 6493-6502. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.012>
 59. Rashid, S., Alsayeqh, A.F., Akhtar, T., Abbas, R.Z. and Ashraf, R. (2023). Probiotics: alternative to antibiotics in poultry production. <https://doi.org/10.47278/journal.ijvs/2022.175>
 60. Redmond, S. B., Tell, R. M., Coble, D., Mueller, C., Palić, D., Andreasen, C. B., & Lamont, S. J. (2010). Differential splenic cytokine responses to dietary immune modulation by diverse chicken lines. *Poultry science*, 89(8), 1635-1641. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00846>
 61. Ren, Z., Yan, J., Whelan, R., Liao, X., Bütz, D.E., Arendt, M.K., Cook, M.E., Yang, X. and Crenshaw, T.D. (2022). Dietary supplementation of sulfur amino acids improves intestinal immunity to Eimeria in broilers treated with anti-interleukin-10 antibody. *Animal Nutrition*, 10, 382-389. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2022.06.008>
 62. Roberfroid, M. (2007). Prebiotics: The concept revisited1. *The Journal of nutrition*, 137(3), 830S-837S. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.830S>
 63. Roque, F., Lopes, M.H.S., Raffi, P., Oliveira, R., Caparroz, M., Longhini, G., Granghelli, C., Faria, D., Araujo, L. and Araujo, C. (2025). Postbiotics: An Alternative for Improving Health and Performance of Poultry Production. *Microorganisms*, 13(7), 1472. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13071472>
 64. Saeed, M., Afzal, Z., Afzal, F., Khan, R. U., Elnesr, S. S., Alagawany, M., & Chen, H. (2023). Use of postbiotic as growth promoter in poultry industry: A review of current knowledge and future prospects. *Food Science of Animal Resources*, 43(6), 1111. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2023.e52>

65. Salim, H.M., Kang, H.K., Akter, N., Kim, D.W., Kim, J.H., Kim, M.J., Na, J.C., Jong, H.B., Choi, H.C., Suh, O.S. and Kim, W.K. (2013). Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens. *Poultry science*, 92(8), 2084-2090. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02947>
66. Sand, J. M., Arendt, M. K., Repasy, A., Deniz, G., & Cook, M. E. (2016). Oral antibody to interleukin-10 reduces growth rate depression due to *Eimeria* spp. infection in broiler chickens. *Poultry Science*, 95(2), 439-446. <https://doi.org/10.3382/ps/pev352>
67. Seighalani, R., Royan, M., Mottaghtalab, M., & Zare, F (2025). Investigation of the Effects of Native Probiotics on the Performance, Immune Response, Morphology, and Intestinal *Lactobacillus* Population in Broiler Chicks. *Iranian Journal of Animal Science Research/Pizhūhishhā-Yi ūlum-i Dāmī-i Īrān*, 17(1) (In Persian). <https://doi.org/10.22067/ijasr.2024.88990.1209>
68. Severino, A., Tohumcu, E., Tamai, L., Dargenio, P., Porcari, S., Rondinella, D., Venturini, I., Maida, M., Gasbarrini, A., Cammarota, G. and Ianiro, G. (2024). The microbiome-driven impact of western diet in the development of noncommunicable chronic disorders. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 101923. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2024.101923>
69. Smith, J.K., Siddiqui, A.A., Krishnaswamy, G.A., Dykes, R., Berk, S.L., Magee, M., Joyner, W. and Cummins, J. (1999). Oral use of interferon-alpha stimulates ISG-15 transcription and production by human buccal epithelial cells. *Journal of interferon & cytokine research*, 19(8), 923-928. <https://doi.org/10.1089/107999099313460>
70. Snijder, E. J., & Meulenbergh, J. J. (1998). The molecular biology of arteriviruses. *Journal of general virology*, 79(5), 961-980. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-79-5-961>
71. Song, J., Xiao, K., Ke, Y.L., Jiao, L.F., Hu, C.H., Diao, Q.Y., Shi, B. and Zou, X.T. (2014). Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. *Poultry science*, 93(3), 581-588. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03455>
72. Soumeh, E. A., Cedeno, A. D. R. C., Niknafs, S., Bromfield, J., & Hoffman, L. C. (2021). The efficiency of probiotics administrated via different routes and doses in enhancing production performance, meat quality, gut morphology, and microbial profile of broiler chickens. *Animals*, 11(12), 3607. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03455>
73. Steidler, L., Hans, W., Schotte, L., Neirynck, S., Obermeier, F., Falk, W., Fiers, W. and Remaut, E. (2000). Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. *Science*, 289(5483), 1352-1355. <https://doi.org/10.1126/science.289.5483.1352>
74. Sun, X., Yang, H., Nose, K., Nose, S., Haxhija, E.Q., Koga, H., Feng, Y. and Teitelbaum, D.H. (2008). Decline in intestinal mucosal IL-10 expression and decreased intestinal barrier function in a mouse model of total parenteral nutrition. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 294(1), G139-G147. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00386.2007>
75. Tomoyose, M., Mitsuyama, K., Ishida, H., Toyonaga, A., & Tanikawa, K. (1998). Role of interleukin-10 in a murine model of dextran sulfate sodium-induced colitis. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 33(4), 435-440. <https://doi.org/10.1080/00365529850171080>
76. Vertiprakhov, V., Grozina, A., Fisinin, V., Ovchinnikova, N., & Bittirov, A. (2021). Impact of various reagents during blood collection from poultry to analyze morpho-biochemical

- indicators. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 262, p. 02009). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202126202009>
77. 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. <https://doi.org/10.3390/ijms17050603>
78. Yurong, Y., Ruiping, S., ShiMin, Z., & Yibao, J. (2005). Effect of probiotics on intestinal mucosal immunity and ultrastructure of cecal tonsils of chickens. *Archives of animal nutrition*, 59(4), 237-246. <https://doi.org/10.1080/17450390500216928>
79. Zhang, L., Zhang, R., Jia, H., Zhu, Z., Li, H., & Ma, Y. (2021). Supplementation of probiotics in water beneficial growth performance, carcass traits, immune function, and antioxidant capacity in broiler chickens. *Open life sciences*, 16(1), 311-322. <https://doi.org/10.1515/biol-2021-0031>
80. Zhang, W., Lv, Z., Nie, Z., Chen, G., Chen, J., Sheng, Q., Yu, W., Jin, Y., Wu, X. and Zhang, Y. (2009). Bioavailability of orally administered rhGM-CSF: a single-dose, randomized, open-label, two-period crossover trial. *PLoS One*, 4(5), e5353. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005353>