Animal Production Research

Vol. 12, No. 2, 2023 (43-56)
doi: 10.22124/AR.2023.23775.1750
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Influence of simultaneous use of immunoglobulin Y, probiotics, and electrolytes on growth performance, health, and diarrhea in Holstein suckling calves

S. E. Ghorbi[1], K. Rezayazdi[2*], A. Zare Shahneh[2], P. Moslehifar[1], B. Lor Kalantari[1], M. Farzi[3], A. Rajabinejad[1], M. A. Baradar[4]

1. Former MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran
2. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran
3. Former MSc Student, Nature Biotechnology Group (Biorun), Karaj, Iran
4. Former MSc Student, the Barin Dairy Farm, Shahriar, Iran

(Received: 04-02-2023 – Revised: 22-07-2023 – Accepted: 23-07-2023)

Introduction: The future of any dairy farm depends on the success of its calf and heifer-raising programs. Regarding the risk of gastrointestinal diseases and the prevalence of diarrhea, suckling calves are among the most sensitive animals in dairy herds. Gastrointestinal diseases are most prevalent in the first two weeks of calves' life and are the reason for 32% of deaths. In addition to short-term economic losses, diarrhea in female calves will delay sexual maturity and reduce milk production performance in the first lactation period. The use of antibiotics to prevent and treat diarrhea in suckling calves is always limited due to antibiotic resistance and some side effects. Research shows that between different anti-diarrhea feed additives, prebiotics and probiotics have the most positive effects in the first weeks of suckling calves' lives. In addition, it has been demonstrated that immunoglobulin Y can be effectively used to inhibit calves' gastrointestinal pathogens such as *Escherichia coli* and *Salmonella* species. Also, the use of electrolytes during diarrhea to prevent dehydration in young animals has been known to be positive. However, the synergistic effects of the simultaneous use of the mentioned additives are not clearly defined. Therefore, the present study was conducted to investigate a combination of immunoglobulin Y, probiotics, and electrolytes' effect on growth performance, feed intake, fecal consistency, health status, and blood parameters of Holstein suckling calves.

Materials and methods: In this study, 24 suckling Holstein calves from birth to 28 days old were divided into two experimental groups (12 replications in each group) in a completely randomized design. The experimental groups included: 1) the control group (without additive) and 2) the group that received 10 grams per day of an anti-diarrheal feed additive contained 1.2 grams of probiotics with 5×10^8 cfu/g, 1 g IgY, and 7.8 g electrolytes. All animals had free access to clean water and the *ad libitum* basal starter feed. The anti-diarrheal additive was dissolved in the calves' morning meal colostrum or milk. Feed intake, growth performance, and *Escherichia coli* fecal count were measured weekly. Rectal temperature and calves' fecal scores were evaluated daily (according to the method provided by Wisconsin University). Also, at birth, 14 and 28 days, blood samples were taken from the jugular vein. The repeated measurement data were analyzed by the MIXED procedure of the SAS version 9.4 statistical software. The means were reported as LSMEANS, and the significance level was considered as $P<0.05$. Also, for the statistical analysis of the fecal scores data, the days of each score were counted.

Results and discussion: The results showed that the average daily weight gain in the third week in the anti-diarrhea group was significantly higher than the control group ($P<0.05$). As a result, the live weight of the third and fourth weeks in the anti-diarrhea group was significantly higher than the control group ($P<0.05$). The starter

* Corresponding author: rezayazdi@ut.ac.ir

CC BY

intake in the anti-diarrhea group was 25% higher in the third week and 12% higher in the whole period than in the control group (P<0.05). Also, the feed conversion rate in the anti-diarrhea group in the second and third weeks was significantly lower than the control group (P<0.05). No significant difference was observed in the blood urea nitrogen, glucose, albumin, cholesterol, and triglyceride concentrations. Also, the anti-diarrheal additive had no significant effect on the count of white blood cells and the percentages of lymphocytes, neutrophils, monocytes, and eosinophils. According to the results, the anti-diarrhea additive had no significant effect on the calves' rectal temperature. The count of fecal *Escherichia coli* in the anti-diarrhea group was significantly lower than the control group in the first week, the first two weeks, and the whole period (P<0.05). The anti-diarrhea additive led to a significant increase in the number of days with zero scores (improvement of feces consistency) and a significant decrease in scores two and three (reduction of diarrhea prevalence) in calves (P<0.05). The results showed that in the first, second, and third weeks, the number of days with diarrhea significantly decreased in the anti-diarrhea group (P<0.05). In addition, the anti-diarrheal additive led to a significant decrease (58%) in the diarrhea length period. According to the period length and hardness of diarrhea, the cost of treating diarrhea in 28 days was estimated to be 830000 Rials and 470000 Rials in the control and anti-diarrhea groups, respectively. Therefore, the anti-diarrhea additive resulted in a 43% reduction in treatment costs.

Conclusions: The results of the present study showed that the supply of an anti-diarrheal additive containing probiotics, immunoglobulin Y, and electrolytes to suckling calves led to a significant increase in growth performance, starter intake, improvement in feed conversion rate, reduction in the count of fecal *Escherichia coli*, and shortening of the diarrhea duration period. However, this additive did not affect rectal temperature, white blood cell status, and blood parameters such as glucose, cholesterol, triglyceride, albumin, total protein, and blood urea nitrogen. Therefore, the anti-diarrheal additive can reduce the prevalence, duration, and grade of diarrhea and its harmful effects and improve suckling calves' growth performance and health status.

Keywords: Diarrhea, Electrolytes, Immunoglobulin Y, Probiotic, Suckling calves

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Acknowledgments: The authors would like to acknowledge Nature Biotechnology Group (Biorun) for providing experimental treatments and considerable financial support. Also, the authors would like to thank the managers of the Barin Dairy Farm for allowing us to conduct this experiment in their farm.

How to cite this article:
Ghorbi, S. E., Rezayazdi, K., Zare Shahneh, A., Moslehifar, P., Lor Kalantari, B., Farzi, M., Rajabinejad, A., & Baradar, M. A. (2023). Influence of simultaneous use of immunoglobulin Y, probiotics, and electrolytes on growth performance, health, and diarrhea in Holstein suckling calves. *Animal Production Research*, *12*(2), 43-56. doi: 10.22124/AR.2023.23775.1750

تحقیقات تولیدات دامی

سال دوازدهم/شماره دوم/تابستان ۱۴۰۲ (۵۶-۴۳)

مقاله پژوهشی

تاثیر استفاده همزمان ایمونوگلوبولین Y، پروبیوتیک و الکترولیت بر عمکرد، سلامت و اسهال در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

سید اسماعیل قربی[۱]، کامران رضایزدی[۲*]، احمد زارع شحنه[۲]، پرهام مصلحی‌فر[۱]، بهین لرکلانتری[۱]، مهدی فرضی[۳]، علیرضا رجبی‌نژاد[۱]، محمدامین برادر[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، شرکت فن‌آوری زیستی طبیعت‌گرا (بایوران)

۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دامداری برین

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۳۱ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۰۱)

چکیده

به منظور مطالعه اثر یک افزودنی ضد اسهال بر رشد و سلامتی گوساله‌ها از ۲۴ راس گوساله شیرخوار هلشتاین از بدو تولد تا ۲۸ روزگی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در دو تیمار آزمایشی با ۱۲ تکرار در هر تیمار آزمایشی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) شاهد (بدون افزودنی) و ۲) حاوی افزودنی ضد اسهال (ترکیبی از ایمونوگلوبولین Y، پروبیوتیک و الکترولیت) روزانه به میزان ۱۰ گرم در شیر بود. استارتر مصرفی، افزایش وزن و شمارش باکتری اشریشیاکلی مدفوع به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. دمای رکتوم و امتیاز مدفوع گوساله‌ها به شکل روزانه ارزیابی شد. همچنین در بدو تولد، ۱۴ و ۲۸ روزگی، جهت بررسی فراسنجه‌های خونی از وداج گردنی حیوانات خون‌گیری شد. نتایج نشان داد که مصرف افزودنی ضد اسهال منجر به افزایش معنی‌دار میانگین وزن نهایی، افزایش ماده خشک مصرفی و بهبود ضریب تبدیل غذایی شد ($P<۰/۰۵$). شمار باکتری اشرشیاکلی در مدفوع در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه ضد اسهال بود ($P<۰/۰۵$). افزودنی ضد اسهال منجر به بهبود معنی‌دار قوام مدفوع و کاهش طول دوره اسهال شد ($P<۰/۰۵$). دمای رکتوم، وضعیت گلبول‌های سفید و فراسنجه‌های خونی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام و نیتروژن اوره‌ای خون تحت تاثیر افزودنی ضد اسهال قرار نگرفتند. می‌توان نتیجه گرفت افزودنی ضد اسهال توانست با کاهش اسهال باعث بهبود عملکرد گوساله‌های شیرخوار شود.

واژه‌های کلیدی: اسهال، الکترولیت، ایمونوگلوبولین Y، پروبیوتیک، گوساله شیرخوار

* نویسندهٔ مسئول: rezayazdi@ut.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2023.23775.1750

مقدمه

آینده هر واحد پرورش گاو شیری بستگی به میزان موفقیت آن در برنامه‌های مربوط به پرورش گوساله و تلیسه دارد. به خطر افتادن سلامت حیوانات جوان منجر به کاهش نرخ رشد، کاهش عملکرد شیردهی آن‌ها در آینده و متعاقباً کاهش ماندگاری دام‌ها در گله خواهد شد (Sivula *et al.*, 1996). بیماری‌های گوارشی بیشترین شیوع را در دو هفته اول زندگی گوساله‌ها داشته و به ترتیب ۵۶ درصد و ۳۲ درصد از ابتلا و مرگ و میر را به خود اختصاص می‌دهند (Urie *et al.*, 2018). اسهال منجر به کاهش تقریباً ۱۰ درصدی تولید شیر در طول اولین دوره شیردهی می‌شود. علاوه بر این، گوساله‌های مبتلا به اسهال حدود سه برابر بیشتر احتمال دارد که پس از ۳۰ ماهگی، اولین زایش خود را تجربه کنند (Waltner-Toews *et al.*, 1986; Heinrichs and Heinrichs, 2011). ضرر اقتصادی ناشی از مرگ گوساله‌ها در نروژ در سال ۲۰۰۶ حدود ۱۰ میلیون دلار آمریکا تخمین زده شده است (Østerås *et al.*, 2007). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان محرک‌های رشد و پیشگیری از عوامل بیماری‌زا به دلیل ایجاد مقاومت دارویی برای مصرف‌کنندگان نهایی مورد انتقاد سازمان‌های بهداشتی جهان قرار گرفته و در بسیاری از کشورهای جهان محدود شده است (Cheng *et al.*, 2014). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها اگرچه منجر به نابودی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌شود، اما می‌تواند باعث کاهش تنوع و فراوانی میکروبیوتای روده و اختلال در عملکرد دستگاه گوارش شود (Helander and Fändriks, 2014). همچنین ممکن است با تغییر در میکروبیوتای روده باعث افزایش نفوذپذیری روده شود که در نتیجه، امکان افزایش هجوم میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را فراهم می‌کند (Tulstrup *et al.*, 2015). در برخی از مطالعات گزارش شده است که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در گوساله‌های شیرخوار منجر به افزایش خطر ابتلا به اسهال (Meganck *et al.*, 2015) و کاهش عملکرد شیردهی آتی آن‌ها (Soberon *et al.*, 2012) می‌شود. بنابراین در سال‌های اخیر، مطالعات زیادی روی یافتن یک افزودنی خوراکی جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌ها تمرکز یافته است (Brewer *et al.*, 2014; Cantor *et al.*, 2019; vega *et al.*, 2020; Stefańska *et al.*, 2021; Karamzadeh-Dehaghani *et al.*). تحقیقات نشان می‌دهد در میان افزودنی‌های مختلف، پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها بیشترین تأثیر را در هفته‌های ابتدایی زندگی گوساله‌های شیرخوار دارند (Abe *et al.*, 1995; Marquez, 2014). علت اثرگذاری قابل توجه پروبیوتیک‌ها در حیوانات جوان، عدم ثبات جمعیت میکروبی دستگاه گوارش است در حالی که با افزایش سن، جمعیت میکروبی پایدار شده و تأثیر بر آن دشوارتر است (Malmuthuge *et al.*, 2015). پروبیوتیک‌ها علاوه بر کاهش میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، افزایش قدرت سیستم ایمنی و بهبود عملکرد گوساله، تاثیر منفی بر سلامت گوساله نداشته و بر خلاف آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت میکروبی ایجاد نمی‌کنند (Shehta *et al*., 2019).

راهکار دیگر برای کاهش اسهال در گوساله‌های شیرخوار، استفاده از ایمونوگلوبولین Y (IgY) است (Vega *et al.*, 2020). IgY ایمونوگلوبولین سرمی در پرندگان، خزندگان و دوزیستان است که از سرم به زرده تخم مرغ منتقل می‌شود و در جنین در حال رشد، ایمنی غیرفعال ایجاد می‌نماید (Pereira *et al.*, 2019). تحقیقات نشان می‌دهند IgY می‌تواند به‌طور موثری برای مهار عوامل بیماری‌زای دستگاه گوارش همچون اشریشیاکلی و گونه‌های سالمونلا در گوساله‌های شیرخوار مورد استفاده قرار گیرد (Ikemori *et al*., 1992; Vega *et al*., 2020; Karamzadeh-Dehaghani *et al*., 2021). همچنین از گذشته تاثیر مثبت الکترولیت‌ها در مقابله با اسهال و دهیدراته شدن حیوانات جوان به اثبات رسیده است (Naylor *et al*., 1990; Wehnes *et al*., 2009). با این حال، آثار هم‌افزایی استفاده همزمان از افزودنی‌های ذکر شده به وضوح مشخص نیست. از همین رو هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی تاثیر استفاده از ترکیبی از ایمونوگلوبولین Y، پروبیوتیک و الکترولیت بر عملکرد رشد، خوراک مصرفی، قوام مدفوع، شاخص‌های سلامت و فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات، تغذیه و جیره‌های آزمایشی: این آزمایش در آذر ماه ۱۴۰۰ صورت پذیرفت. برای انجام این طرح، ۲۴ راس گوساله شیرخوار هلشتاین از بدو تولد با میانگین وزن ۳۶/۲۰ کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در دو گروه آزمایشی (شش نر و شش ماده در هر گروه آزمایشی) در جایگاه‌های انفرادی تقسیم و نگهداری شدند.

گروه‌های آزمایشی شامل: ۱) گروه شاهد (بدون افزودنی)، ۲) گروه مصرف‌کننده افزودنی ضد اسهال به مقدار ۱۰ گرم در روز حاوی ۱/۲ گرم پروبیوتیک با تراکم سلولی 5×10^{8} cfu/g به همراه یک گرم IgY و ۷/۸ گرم الکترولیت (با نام تجاری دایادیفنس، تولید شرکت فناوری زیستی طبیعت گرا) بودند. گوساله‌ها بلافاصله پس از تولد، چهار لیتر و ۱۲ ساعت بعد از آن، دو لیتر آغوز به وسیله پستانک دریافت کردند و مصرف آغوز تا سه روزگی ادامه یافت. مطابق با برنامه شیردهی گاوداری، از سن ۴ تا ۲۸ روزگی، مقدار چهار کیلوگرم شیر (حاوی ۱۲/۵ درصد ماده خشک، ۳/۸۵ درصد چربی و ۳/۱۷ درصد پروتئین) در دو وعده ۷ صبح و ۲ بعد از ظهر در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. طی آزمایش، آب و خوراک استارتر در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت و تنها نیم ساعت قبل و بعد از شیردهی، آب از دسترس گوساله‌ها خارج شد. افزودنی ضد اسهال در کل آزمایش به‌صورت روزانه در وعده صبح در آغوز یا شیر حل شده و در اختیار حیوان قرار گرفت. بستر گوساله‌ها از جنس کاه بوده و روزانه تعویض شد. ترکیب استارتر برای هر دو دسته در کل دوره یکسان بود و برای توسعه مطلوب شکمبه بر اساس مطالعات از بدو تولد به میزان ۱۰ درصد خوراک آغازین یونجه خشک مخلوط با استارتر در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت (Hosseinabadi *et al.*, 2019). اقلام خوراکی استارتر پایه، انرژی و مواد مغذی آن در جدول ۱ گزارش شده است.

صفات مورد بررسی، نحوه اندازه‌گیری، ثبت و تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای بررسی عملکرد رشد، وزن تولد به عنوان عامل متغیر همبسته در نظر گرفته شد و پس از آن، وزن بدن به‌صورت هفتگی به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۲۰ گرم ثبت شد و میانگین افزایش وزن روزانه بر حسب گرم از تقسیم اختلاف بین دو وزن‌کشی بر تعداد روزهای سپری شده محاسبه شد. همچنین میانگین مصرف استارتر به‌صورت هفتگی به وسیله ترازو با دقت یک گرم اندازه‌گیری شد. ضریب تبدیل غذایی (FCR) از تقسیم میانگین ماده خشک مصرفی روزانه (ماده خشک شیر و ماده خشک استارتر) هر گوساله بر میانگین افزایش وزن روزانه آن محاسبه شد.

به منظور تعیین فراسنجه‌های خونی از سیاهرگ وداج گردنی گوساله‌ها به وسیله لوله‌های ونوجکت دارای خلاء حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (Kang jian, Jiangsu, China) در روز تولد، ۱۴ و ۲۸ روزگی خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های خون به مدت ۱۵ دقیقه و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و نمونه‌های پلاسما پس از جداسازی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. جهت اندازه‌گیری گلوکز، پروتئین تام، کلسترول، آلبومین، تری‌گلیسرید و نیتروژن اوره‌ای خون (BUN) از کیت‌های تجاری بایرکس فارس و اسپکتروفتومتری UV/Vis (UV- 2100, Shimadzu, Japan) استفاده شد. همچنین جهت بررسی وضعیت ایمنی گوساله‌ها، شمار کل گلبول‌های سفید، درصدهای لنفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل در روز تولد، ۱۴ و ۲۸ روزگی از سیاهرگ وداج گردنی گوساله‌ها به وسیله لوله‌های خلاء حاوی ماده ضد انعقاد EDTA خون‌گیری شد و به آزمایشگاه دامپزشکی دام‌آور ارسال شد.

امتیاز مدفوع گوساله‌ها به‌طور روزانه و بر اساس روش ارائه شده به وسیله دانشگاه ویسکانسین مورد ارزیابی قرار گرفت به‌طوری که در این امتیازدهی، امتیاز صفر= مدفوع طبیعی، امتیاز یک= مدفوع خمیر مانند، امتیاز دو= مدفوع شل و امتیاز سه= مدفوع آبکی بود (McGuirk, 2008). دمای رکتوم گوساله‌ها در روز تولد و سپس به شکل روزانه از طریق دماسنج دیجیتال اندازه‌گیری و ثبت شد و به شکل هفتگی و کل گزارش شد. جهت شمارش باکتری اشریشیاکلی در روز تولد و پس از آن هر هفت روز یکبار، از راه تحریک راست روده با دستکش استریل، نمونه مدفوع گوساله‌ها به‌صورت جداگانه گرفته شده و به ظروف استریل منتقل شد و سپس در دمای ۲۰- سلسیوس تا زمان آزمایش منجمد شد. جهت کشت باکتری اشریشیاکلی، رقت‌های مختلف تا 10^{-8} تهیه شد، سپس جهت تلقیح رقت‌های مختلف برای باکتری اشرشیاکلی از محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار (EMB) استفاده شد که پس از تلقیح و انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، اقدام به شمارش کلنی‌ها شد. نتایج مرتبط با شمار باکتری اشرشیاکلی در مدفوع گوساله‌ها به‌صورت لگاریتم بر پایه ۱۰ گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها با ماهیت تکرار شونده در زمان از رویه MIXED نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ استفاده شد و داده‌ها به شکل هفتگی، میانگین دو هفته اول (به دلیل شیوع بالای اسهال در این مقطع) و میانگین کل دوره گزارش شد. مقایسه میانگین به صورت LSMEANS گزارش شد. سطح

معنی‌داری نیز پنج درصد در نظر گرفته شد. مدل آماری مورد استفاده در رویه MIXED برای داده‌های با ماهیت تکرار شونده در زمان به شرح زیر بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + A_{ijk}(T_i) + (TP)_{ij} + e_{ijkl}$$

در این معادله، Y_{ijkl}: ijkl امین مشاهده مربوط به صفت مورد بررسی، μ: میانگین جمعیت آزمایشی، T_i: اثر i امین تیمار، P_j: اثر j امین دوره آزمایشی، $A_{ijk}(T_i)$: اثر تصادفی حیوان در تیمار آزمایشی، $(TP)_{ij}$: اثر متقابل i امین تیمار در j امین دوره آزمایشی، e_{ijkl}: اثر عوامل باقیمانده در نظر گرفته شد. همچنین جهت تجزیه آماری داده‌های مرتبط با امتیاز مدفوع، تعداد روزهای هر امتیاز برای هر گوساله برای هر هفته و کل دوره استفاده شد (Swedzinski *et al*., 2020).

نتایج

عملکرد رشد و مصرف استارتر و ضریب تبدیل غذایی گوساله‌ها: وزن گوساله‌ها در هفته‌های مختلف، میانگین افزایش وزن روزانه، استارتر مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میانگین افزایش وزن روزانه در هفته سوم در گروه افزودنی ضد اسهال نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). در نتیجه، وزن هفته‌های سوم و چهارم در گروه افزودنی ضد اسهال نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). میزان مصرف استارتر در گروه افزودنی ضد اسهال در هفته سوم، ۲۵ درصد و در کل دوره، ۱۲ درصد بیشتر از گروه شاهد بود ($P<۰/۰۵$). همچنین ضریب تبدیل غذایی در گروه ضد اسهال در هفته‌های دوم و سوم به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد بود ($P<۰/۰۵$).

فراسنجه‌های خونی: تاثیر جیره‌های آزمایشی بر برخی از فراسنجه‌های خونی و وضعیت گلبول‌های سفید در جدول ۳ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری در غلظت نیتروژن اوره‌ای خون، گلوکز، آلبومین، کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسمای گوساله‌های تغذیه شده با جیره‌های مختلف مشاهده نشد. همچنین افزودنی ضد اسهال دارای تاثیر معنی‌دار بر تعداد گلبول‌های سفید و درصدهای لنفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل نبود.

دمای رکتوم، امتیاز مدفوع و کشت میکروبی مدفوع گوساله‌ها: دمای رکتوم و شمار باکتری اشرشیاکلی در مدفوع گوساله‌های تغذیه شده با جیره‌های مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. با توجه به نتایج، افزودنی ضد اسهال دارای اثر معنی‌داری بر دمای رکتوم گوساله‌ها نبود. شمار باکتری اشرشیاکلی در مدفوع در گروه ضد اسهال در هفته اول، دو هفته اول و در کل دوره به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱- مواد تشکیل دهنده، انرژی و ترکیب شیمیایی استارتر پایه (بر اساس ماده خشک)

Table 1. Ingredients and chemical composition of basal diet (DM basis)

Ingredients	% in DM	Energy and nutrients	Value
Corn grain	56.00	DM (%)	90.00
Barley grain	1.20	ME, Mcal/kg	3.00
Soybean Meal	29.50	CP (%)	19.50
Rumen-protected Fat	3.00	EE (%)	6.00
Corn Gluten Meal	5.00	CF (%)	4.20
Sodium bicarbonate	1.00	NDF (%)	16.50
Magnesium oxide	0.30	ADF (%)	8.40
Calcium carbonate	1.00	Ca (%)	1.00
Mineral and vitamin premix[1]	2.00	P (%)	0.50
Bentonite	0.50		
Salt	0.30		
Mycotoxin binder	0.20		

[1] Mineral and vitamin premix per Kilogram included: 625000 IU vitamin A; 3000 IU vitamin E; 150000 IU vitamin D3; 10000 mg Calcium; 20000 mg Phosphorus; 20000 mg Magnesium; 25000 mg Sodium; 2500 mg Iron; 3000 mg Manganese; 3000 mg Zinc; 1250 mg Copper; 50 mg Iodine; 20 mg Selenium; 25 mg Cobalt; 1000 mg antioxidant.

جدول ۲- میانگین وزن بدن، رشد، استارتر مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های آزمایشی

Table 2. Average body weight, growth, starter intake and feed conversion ratio in experimental groups

Item	Treatment		SEM	*P*-value		
	Control	Anti-diarrhea		Treatment	Time	Interaction
Body Weight (kg)						
7 d	37.56	37.76	0.171	0.2536	-	-
14 d	39.44	40.02	0.413	0.1845	-	-
21 d	42.06[b]	43.50[a]	0.591	0.0218	-	-
28 d	46.40[b]	48.01[a]	0.580	0.0480	-	-
0-14 d	38.50	38.89	0.193	0.1627	0.0001	0.2435
0-28 d	41.37	42.32	0.350	0.0642	0.0001	0.0226
Average daily gain (g/d)						
0-7 d	194.08	223.83	23.259	0.2127	-	-
7-14 d	273.08	322.00	43.541	0.2681	-	-
14-21 d	374.40[b]	496.33[a]	41.943	0.0083	-	-
21-28 d	619.64	644.67	43.122	0.5754	-	-
0-14 d	233.58	272.92	20.381	0.1796	0.0002	0.6339
0-28 d	365.48	421.73	22.475	0.0690	0.0001	0.1113
Starter intake (g/d)						
0-7 d	65.42	63.67	5.901	0.7734	-	-
7-14 d	156.92	185.25	16.592	0.1037	-	-
14-21 d	237.83[b]	297.42[a]	8.604	<.0001	-	-
21-28 d	431.08	452.67	14.163	0.1396	-	-
0-14 d	111.17	124.46	6.383	0.1502	<.0001	0.0867
0-28 d	222.81[b]	249.75[a]	7.093	0.0053	<.0001	0.0006
Feed conversion ratio[1]						
0-7 d	3.01	2.8	0.334	0.5221	-	-
7-14 d	2.73[a]	2.34[b]	0.181	0.0445	-	-
14-21 d	2.25[a]	1.63[b]	0.285	0.0397	-	-
21-28 d	1.54	1.51	0.112	0.7926	-	-
0-14 d	2.87	2.57	0.163	0.1927	0.01	0.5681
0-28 d	2.41	2.07	0.185	0.0760	<.0001	0.3125

[1] Based on the dry matter intake.

[a-b] Means with different superscripts within the same row differ significantly ($P<0.05$).

جدول ۳- فراسنجه‌های خونی و گلبول‌های سفید گوساله‌ها در گروه‌های آزمایشی

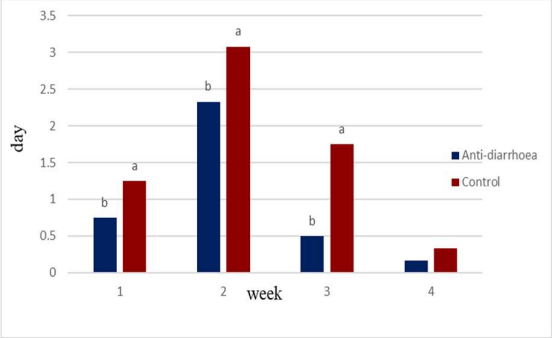
Table 3. Blood parameters and white blood cells of calves in experimental groups

Item	Treatment		SEM	*P*-value		
	Control	Anti-diarrhea		Treat	Time	Interaction
Blood parameters						
Glucose (mmol/L)	4.55	4.51	0.134	0.8371	0.4121	0.7567
Triglyceride (mmol/L)	0.279	0.277	0.017	0.8912	0.2935	0.0062
Cholesterol (mmol/L)	3.16	3.12	0.134	0.7752	0.9609	0.4737
BUN (mmol/L)	4.51	4.64	0.164	0.4459	0.7293	0.8409
Total protein (g/L)	51.12	55.12	2.991	0.2213	0.0051	0.0237
Albumin (g/L)	26.32	26.28	1.207	0.9752	0.8226	0.9917
White blood cell						
WBC (count/µL)	10930	10625	724.037	0.7154	0.1216	0.0748
Lymphocyte (%)	58.99	55.81	2.905	0.3099	0.0445	0.4173
Neutrophil (%)	36.91	39.96	2.953	0.3218	0.0516	0.4062
Monocyte (%)	3.11	3.05	0.535	0.9201	0.7320	0.9361
Eosinophil (%)	1.27	0.97	0.192	0.1477	0.3326	0.4234

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر تعداد روزهای با امتیاز مختلف مدفوع در جدول ۶ نشان داده شده است. استفاده از افزودنی ضد اسهال منجربه افزایش معنی‌دار تعداد روزهای با امتیاز صفر (بهبود قوام مدفوع) و کاهش معنی‌دار امتیاز دو و سه (دارای اسهال) در گوساله‌ها شد ($P<۰/۰۵$). همچنین همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، در هفته‌های اول، دوم و سوم، تعداد روزهای درگیری با اسهال به‌طور معنی‌داری در گروه ضد اسهال کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). علاوه بر این، افزودنی ضد اسهال توانست منجر به کاهش معنی‌دار ۵۸ درصدی طول دوره اسهال در گوساله‌ها شود. با توجه طول دوره اسهال، هزینه درمان اسهال گوساله‌های شیرخوار تا ۲۸ روزگی، در گروه‌های شاهد و ضد اسهال به ترتیب ۸۳ هزار تومان و ۴۷ هزار تومان تخمین زده شد. از این رو افزودنی ضد اسهال منجر به کاهش ۴۳ درصدی هزینه‌های درمانی شد.

بحث

عملکرد رشد، مصرف استارتر و ضریب تبدیل غذایی: اگرچه پیشرفت‌های بسیاری در صنعت گاو شیری در زمینه مدیریت گله، برنامه‌های خوراک‌دهی، تغذیه و استفاده بهینه از افزودنی‌های غیر آنتی‌بیوتیکی صورت گرفته است، اما اسهال گوساله‌ها به دلیل چندعاملی بودن این بیماری هنوز مشکل ساز است (Cho and Yoon, 2014). نتایج نشان داد که استفاده از افزودنی ضد اسهال در آغوز و شیر می‌تواند منجر به بهبود ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی و وزن نهایی گوساله‌ها شود. سلول‌های پوششی دستگاه گوارش مقدار زیادی از انرژی و مواد مغذی به‌دست آمده به وسیله جیره و تخمیر میکروبی را برای جذب، انتقال مواد مغذی و نگهداری بافت پوششی استفاده می‌کنند (Baldwin *et al.*, 2004). التهاب و تخریب بافت پوششی روده علاوه بر افزایش انرژی مصرفی به وسیله سلول‌های دستگاه گوارش منجر به سست شدن سد مخاطی روده و افزایش نفوذپذیری آن به انواع سموم باکتریایی و قارچی می‌شود (Bischoff *et al.*, 2014; Geurts *et al.*, 2014). بر اساس مطالعات انجام شده، عمده‌ترین دلیل کاهش رشد در گوساله‌های جوان، اختلال در هضم و جذب مواد مغذی و تثبیت و تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا در دیواره روده است (Signorini *et al.*, 2012).



شکل ۱- میانگین تعداد روزهای درگیری با اسهال در هفته‌های مختلف

Fig. 1. The average number of days with diarrhea in different weeks

پروبیوتیک‌ها ترکیبات ضدمیکروبی مختلفی نظیر باکتریوسین‌ها، پراکسید هیدروژن، اسیدهای چرب فرار (VFA)، نیتریک اکسید (Chenoll *et al.*, 2011) و همچنین ترکیبات ضد التهابی مانند *Interleukin-10* (Sokol *et al.*, 2008) را تولید می‌کنند که این عوامل به پروبیوتیک‌ها کمک می‌کنند تا با باکتری‌های مهاجم و بیماری‌زای روده رقابت و مقابله کنند (Roos and Holm, 2002). علاوه بر این، نشان داده شده است که استفاده از پروبیوتیک‌های مخمری باعث افزایش طول پرز و نسبت پرز به کریپت در روده شده که منجر به افزایش سطح جذب و بهبود آن می‌شود (Xiao *et al.*, 2016). پروبیوتیک‌ها با ایجاد یک میکروبیوتای مفید در روده و همچنین بهبود عملکرد روده می‌توانند به سلامت روده و به ایمنی مخاطی کمک کنند. همچنین تحقیقات نشان داده است که پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند بازدهی انرژی و قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام و اسیدهای آمینه را بهبود بخشیده و زیست فراهمی مواد معدنی را افزایش دهند (Li *et al.*, 2008; Kong *et al.*, 2008; Kong *et al.*, 2011). همچنین گزارش شده است که مصرف IgY در تغذیه گوساله‌های شیرخوار از راه بهبود وضعیت سلامت مجرای گوارشی منجر به بهبود عملکرد رشد و افزایش بازدهی خوراک می‌شود (Özpinar *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2011). بنابراین، می‌توان بهبود عملکرد رشد مشاهده شده در گروه دریافت‌کننده ضد اسهال را تا حدودی به کاهش التهاب بافت روده، بهبود یکپارچگی سد مخاطی و همچنین بهبود هضم و جذب مواد مغذی خوراک ناشی از مصرف پروبیوتیک نسبت داد.

جدول ۵- دمای رکتوم و شمار باکتری اشرشیاکلی در مدفوع گوساله‌ها در گروه‌های آزمایشی

Table 5. Rectal temperature and the number of E.coli count in feces of calves in experimental groups

Item	Treatment		SEM	*P*-value		
	Control	Anti-diarrhea		Treat	Time	Interaction
Rectal Temperature (C°)						
0-7 d	38.83	38.9	0.130	0.5549	-	-
7-14 d	39.14	38.93	0.145	0.1421	-	-
14-21 d	39.15	39.04	0.156	0.4804	-	-
21-28 d	39.06	38.94	0.118	0.3035	-	-
0-14 d	38.99	38.91	0.069	0.4879	0.0641	0.1043
0-28 d	39.05	38.95	0.095	0.3219	0.0817	0.3849
E.coli (log_{10} cfu/g)						
3 d	8.79	8.72	0.263	0.7904	-	-
7 d	8.47 [a]	8.04 [b]	0.194	0.0334	-	-
14 d	8.55	8.1	0.265	0.0928	-	-
21 d	8.13	7.55	0.313	0.0712	-	-
28 d	7.54	7.30	0.474	0.6546	-	-
0-14 d	8.6 [a]	8.29 [b]	0.133	0.0241	0.0240	0.5421
0-28 d	8.04 [a]	7.88 [b]	0.211	0.0216	0.0002	0.6736

[a-b] Means with different superscripts within the same row differ significantly ($P<0.05$).

جدول ۶- امتیاز مدفوع گوساله هادر گروه‌های آزمایشی

Table 6. Calves fecal scores in experimental groups

Total days of fecal scores[1]	Treatment		SEM	*P*-value
	Control	Anti-diarrhea		
Score 0	14.42 [b]	18.83 [a]	0.812	0.0011
Score 1	7.17	5.42	0.639	0.0667
Score 2	5.33 [a]	3.5 [b]	0.535	0.0225
Score 3	1.08 [a]	0.25 [b]	0.194	0.0044
Diarrhea[2]	6.42 [a]	3.75 [b]	0.533	0.0012

[1] Fecal scores were established as 0) normal, 1) semi-formed and/or pasty, 2) loose but stays on top of bedding, and 3) watery and/or sifts through bedding.

[2] Fecal score ≥2 = diarrhea.

[a-b] Means with different superscripts within the same row differ significantly ($P<0.05$).

افزایش عملکرد رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی در گروه ضد اسهال ممکن است به دلیل افزایش استارتر مصرفی و یا کاهش انرژی مورد نیاز برای حفظ و ترمیم بافت مجرای گوارشی باشد (Foditsch *et al*., 2015). مطابق با نتایج حاضر، استفاده از IgY علیه روتاویروس در گوساله‌های شیرخوار منجر به افزایش وزن در گوساله‌های دریافت‌کننده تیمار در مقایسه با گروه شاهد شد (Özpinar *et al*., 1996). در مطالعه دیگری، استفاده از IgY در گوساله‌های شیرخوار در چهارده روز ابتدایی زندگی منجر به بهبود افزایش وزن روزانه و بازدهی خوراک نسبت به گروه شاهد شد (Karamzadeh-Dehaghani *et al*., 2021). استفاده از *Faecalibacterium prausnitzii* با تراکم 1.43×10^{7} cfu/g در گوساله‌های شیرخوار، منجر به افزایش وزن نهایی در پیش از شیرگیری شد به‌طوری که گوساله‌های دریافت-کننده *F. prausnitzii*، ۴/۴ کیلوگرم وزن بالاتری در مقایسه با شاهد داشتند (Foditsch *et al*., 2021). محققان گزارش کردند استفاده از پروبیوتیک در تغذیه گوساله‌های شیرخوار موجب بهبود میانگین افزایش وزن روزانه در طول ۲۸ روز ابتدایی زندگی گوساله‌ها در مقایسه با گروه شاهد شد، اما پس از ۲۸ روزگی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (Cantor *et al*., 2019). اگرچه در برخی مطالعات، افزودن پروبیوتیک حاوی چند گونه مختلف از لاکتوباسیلوس‌ها، تاثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد نداشت، با این حال منجر به بهبود معنی‌دار راندمان مصرف خوراک طی هشت هفته اول زندگی گوساله‌ها شد (Timmerman *et al*., 2005). در تحقیق مشابهی، استفاده از پروبیوتیک به میزان 1×10^{10}

cfu/g منجر به افزایش معنی‌دار مصرف استارتر در گوساله‌ها شد (Zhang *et al*., 2019).

با این حال، در تضاد با پژوهش حاضر، استفاده از پروبیوتیک حاوی سویه‌های *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus salivarius* و *Pediococcus acidilactici* با تراکم 1×10^9 cfu/g به مدت ۳۵ روز در گوساله‌ها تفاوتی را در عملکرد رشد آن‌ها ایجاد نکرد (Frizzo *et al*., 2011). در مطالعه‌ای مشابه، استفاده از پروبیوتیک در زمان اسهال گوساله‌ها، تاثیر معنی‌داری بر میانگین افزایش وزن روزانه نداشت (Renaud *et al*., 2019). همچنین افزودن پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم یا باسیلوس سوبتیلیس با تراکم 1.7×10^{10} cfu/g طی ۱۲ هفته زندگی گوساله‌ها تاثیر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک نداشت (Zhang *et al*., 2016). وجود نتایج متناقض در مطالعات مختلف ممکن است به تفاوت در نوع، روش و مقدار مصرف افزودنی ضد اسهال، وضعیت سلامت گوساله‌ها از نظر شدت و مدت قرار گرفتن در معرض عوامل بیماری‌زا مرتبط باشد.

فراسنجه‌های خونی: فراسنجه‌های خونی عمدتاً تحت تاثیر هموستاز بدن، سن حیوان و نوع جیره مصرفی قرار دارند که این امر منجر می‌شود تا بسیاری از افزودنی‌های خوراکی از جمله پریبیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها تاثیر معنی‌دار ثابت و مشخصی بر آن‌ها نداشته باشند (Ülger, 2019). همچنین اگرچه مصرف پروبیوتیک‌ها و IgY منجر به تحریک ترشح IgA از بافت پوششی روده و بهبود فعالیت فاگوسیتوزی می‌شوند، با این حال تاثیر معنی‌داری بر سیستم ایمنی در سطح سیستماتیک ندارند (Villot *et al*., 2020). سایر محققین نیز مانند نتایج حاضر، تاثیر معنی‌داری بر وضعیت گلبول‌های سفید و برخی از فراسنجه‌های خونی مشاهده نکردند (Zhang *et al*., 2019; Liang *et al*., 2020).

دمای رکتوم، امتیاز مدفوع و شمار باکتری اشرشیاکلی در مدفوع: تحقیقات نشان داد مصرف پروبیوتیک در تغذیه گوساله‌های شیرخوار درگیر با سالمونلا منجر به تغییر معنی‌دار دمای رکتوم نشد (Liang *et al*., 2020). همچنین در مطالعه‌ای مشابه، استفاده پروبیوتیک مخمری باعث تغییر معنی‌دار دمای رکتوم گوساله‌های شیرخوار نشد (Hill *et al*., 2009)، که این نتایج با نتایج تحقیق حاضر منطبق بود. با این حال در برخی از تحقیقات، مصرف پروبیوتیک مخمری توانست دمای رکتوم را در گوساله شیرخوار درگیر با سالمونلا به‌طور معنی‌داری کاهش دهد (Brewer *et al*., 2014). وجود تناقض در نتایج مربوط به دمای رکتوم را می‌توان به تفاوت در مقدار و نوع پروبیوتیک مصرفی و تفاوت در شدت القای عامل بیماری‌زا مرتبط دانست.

مطالعات نشان می‌دهد عوامل بیماری‌زای باکتریایی مانند اشرشیاکلی و سالمونلا در گوساله‌های شیرخوار به ویژه در هفته‌های اول زندگی با اختلال در عملکرد اتصالات محکم، سد مخاطی و آتروفی بافت پوششی روده منجر به دفع آب و الکترولیت‌ها و در نتیجه بروز اسهال و متعاقب آن کم آبی در بدن گوساله‌ها می‌شود (Guttman, 2009; Meganck *et al*., 2015; Carter *et al*., 2021) در تحقیق حاضر نیز بیشترین میزان اسهال در گروه شاهد و در دو هفته ابتدایی زندگی گوساله‌ها مشاهده شد (جدول ۶).

در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که مصرف پروبیوتیک‌ها از سنین ابتدایی می‌تواند قوام مدفوع را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشیده و با کاهش شیوع و مدت اسهال به سلامت گوساله‌های شیرخوار کمک کرده است. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که مصرف الکترولیت‌ها در زمان وقوع اسهال می‌تواند با جبران الکترولیت‌های از دست رفته به حفظ آب بدن و کاهش ضررهای ناشی از اسهال در حیوانات جوان کمک نماید (Constable, 2001). در مطالعه حاضر نیز مصرف همزمان پروبیوتیک و الکترولیت منجر به کاهش معنی‌دار تعداد روزهای درگیری با اسهال (امتیاز بالاتر از ۲) و بهبود قوام مدفوع به ویژه در سه هفته اول زندگی گوساله‌ها شود (شکل ۱). مطالعات مختلف نیز کاهش شیوع و مدت اسهال و همچنین بهبود قوام مدفوع در اثر مصرف پروبیوتیک و IgY را گزارش کردند که در انطباق با نتایج حاضر بود (Foditsch *et al*., 2015; Zhang *et al*., 2019; Vega *et al*., 2020; Karamzadeh-Dehaghani *et al*., 2021).

پروبیوتیک‌ها می‌توانند از راه رقابت با عوامل بیماری‌زا بر سر منابع غذایی و جایگاه اتصال، مانع تثبیت و تکثیر عوامل بیماری‌زا در دیواره مجرای گوارش شوند (Servin, 2004). همچنین پروبیوتیک‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم با تولید برخی ترکیبات بازدارنده (La Ragione and Woodward, 2003) و یا به‌طور غیرمستقیم از راه تحریک تولید IgA به وسیله بافت پوششی (Pabst *et al*., 2016; Villot *et al*., 2020) منجر به کاهش عوامل بیماری‌زا مانند اشرشیاکلی در مجرای گوارشی و متعاقبا در مدفوع میشوند.

علاوه بر این، تحقیقات نشان می‌دهند استفاده از IgY در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی می‌تواند اتصال عوامل بیماری‌زا به دیواره دستگاه گوارش را کاهش داده (Jin *et al.*, 1998) و از راه بهبود فعالیت فاگوسیتوزی نوتروفیل‌ها (Zhen *et al.*, 2008) و خنثی‌سازی سموم (Xu *et al.*, 2011) منجر به بهبود سلامت دستگاه گوارش و کاهش شیوع اسهال در گوساله‌های جوان شود. در مطالعه حاضر نیز مصرف ترکیب حاوی پروبیوتیک و IgY شمار باکتری اشرشیاکلی در مدفوع را کاهش داد که این نتیجه با کاهش تعداد روزهای درگیری با اسهال در گروه ضد اسهال نسبت به گروه شاهد مطابقت دارد. نتایج حاضر با مطالعات مختلفی که کاهش شمار باکتری‌های بیماری‌زا را در اثر مصرف پروبیوتیک و IgY گزارش کردند منطبق بود (Timmerman *et al.*, 2005; Karamzadeh-Dehaghani et al., 2021).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد مصرف افزودنی ضد اسهال منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد رشد، مصرف خوراک، بهبود ضریب تبدیل غذایی، کاهش شمار باکتری اشرشیاکلی مدفوع و کاهش مدت اسهال در گوساله‌های شیرخوار شد. با این حال، این افزودنی تاثیری بر دمای رکتوم، وضعیت گلبول‌های سفید خون و فراسنجه‌های خونی نظیر گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین، پروتئین تام و نیتروژن اوره‌ای خون نداشت. بنابراین استفاده از افزودنی ضد اسهال می‌تواند مدت اسهال و آثار وقوع آن را کاهش داده و منجر به بهبود عملکرد و سلامت گوساله‌ها شود.

تشکر و قدردانی

صمیمانه از شرکت فن آوری زیستی طبیعت‌گرا جهت تامین تامین تیمارهای آزمایشی و همچنین تامین بخش قابل توجهی از هزینه‌های صورت گرفته در این پژوهش سپاسگزاری می‌شود. همچنین از دامداری برین و مدیریت آن جهت اجازه انجام این تحقیق، از صمیم قلب قدردانی می‌شود.

فهرست منابع

Abe, F., Ishibashi, N., & Shimamura, S. (1995). Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *Journal of Dairy Science*, *78*(12), 2838-2846. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(95)76914-4

Bischoff, S. C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J.-D., Serino, M., & Wells, J. M. (2014). Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*, *14*(1). doi: 10.1186/s12876-014-0189-7

Brewer, M. T., Anderson, K. L., Yoon, I., Scott, M. F., & Carlson, S. A. (2014). Amelioration of salmonellosis in pre-weaned dairy calves fed Saccharomyces cerevisiae fermentation products in feed and milk replacer. *Veterinary Microbiology*, *172*(1-2), 248-255. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.05.026

Cantor, M. C., Stanton, A. L., Combs, D. K., & Costa, J. H. (2019). Effect of milk feeding strategy and lactic acid probiotics on growth and behavior of dairy calves fed using an automated feeding system. *Journal of Animal Science*, *97*(3), 1052-1065. doi: 10.1093/jas/skz034

Carter, H. S., Renaud, D. L., Steele, M. A., Fischer-Tlustos, A. J., & Costa, J. H. (2021). A narrative review on the unexplored potential of colostrum as a preventative treatment and therapy for diarrhea in neonatal dairy calves. *Animals*, *11*(8), 2221. doi: 10.3390/ani11082221

Cheng, G., Hao, H., Xie, S., Wang, X., Dai, M., Huang, L., & Yuan, Z. (2014). Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Frontiers in Microbiology*, *5*, 217. doi: 10.3389/fmicb.2014.00217

Chenoll, E., Casinos, B., Bataller, E., Astals, P., Echevarría, J., Iglesias, J. R., & Genovés, S. (2011). Novel probiotic Bifidobacterium bifidum CECT 7366 strain active against the pathogenic bacterium Helicobacter pylori. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(4), 1335-1343. doi: 10.1128/AEM.01820-10

Cho, Y. I., & Yoon, K. J. (2014). An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, *15*(1), 1-17. doi: 10.4142/jvs.2014.15.1.1

Constable, P. D., Thomas, E., & Boisrame, B. (2001). Comparison of two oral electrolyte solutions for the treatment of dehydrated calves with experimentally-induced diarrhoea. *The Veterinary Journal*, *162*(2), 129-140. doi: 10.1053/tvjl.2000.0553

Foditsch, C., Pereira, R. V. V., Ganda, E. K., Gomez, M. S., Marques, E. C., Santin, T., & Bicalho, R. C. (2015). Oral administration of Faecalibacterium prausnitzii decreased the incidence of severe diarrhea and related

mortality rate and increased weight gain in preweaned dairy heifers. *PloS One*, *10*(12), e0145485. doi: 10.1371/journal.pone.0145485

Frizzo, L. S., Soto, L. P., Zbrun, M. V., Signorini, M. L., Bertozzi, E., Sequeira, G., & Rosmini, M. R. (2011). Effect of lactic acid bacteria and lactose on growth performance and intestinal microbial balance of artificially reared calves. *Livestock Science*, *140*(1-3), 246-252. doi: 10.1016/j.livsci.2011.04.002

Geurts, L., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., Knauf, C., & Cani, P. D. (2014). Gut microbiota controls adipose tissue expansion, gut barrier and glucose metabolism: novel insights into molecular targets and interventions using prebiotics. *Beneficial Microbes*, *5*(1), 3-17. doi: 10.3920/bm2012.0065

Guttman, J. A., & Finlay, B. B. (2009). Tight junctions as targets of infectious agents. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, *1788*(4), 832-841. doi: 10.1016/j.bbamem.2008.10.028

Heinrichs, A. J., & Heinrichs, B. S. (2011). A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. *Journal of Dairy Science*, *94*(1), 336-341. doi: 10.3168/jds.2010-3170

Helander, H. F., & Fändriks, L. (2014). Surface area of the digestive tract–revisited. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *49*(6), 681-689. doi: 10.3109/00365521.2014.898326

Hill, S. R., Hopkins, B. A., Davidson, S., Bolt, S. M., Diaz, D. E., Brownie, C., & Whitlow, L. W. (2009). The addition of cottonseed hulls to the starter and supplementation of live yeast or mannanoligosaccharide in the milk for young calves. *Journal of Dairy Science*, *92*(2), 790-798. doi: 10.3168/jds.2008-1320

Hosseinabadi, M., Rezayazdi, K., & Dehghan-Banadaky, M. (2019). Effect of corn silage and its supplementation time in starter diet on the performance and rumen parameters of suckling Holstein calves. *Animal Production Research*, *8*(4). doi: 10.22124/ar.2019.124031380 [In Persian]

Ikemori, Y., Kuroki, M., Peralta, R. C., Yokoyama, H., & Kodama, Y. (1992). Protection of neonatal calves against fatal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with K99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. *American Journal of Veterinary Research*, *53*(11), 2005-2008.

Jin, L. Z., Baidoo, S. K., Marquardt, R. R., & Frohlich, A. A. (1998). In vitro inhibition of adhesion of enterotoxigenic Escherichia coli K88 to piglet intestinal mucus by egg-yolk antibodies. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, *21*(4), 313-321. doi: 10.1111/j.1574-695X.1998.tb01179.x

Karamzadeh-Dehaghani, A., Towhidi, A., Zhandi, M., Mojgani, N., & Fouladi-Nashta, A. (2021). Combined effect of probiotics and specific immunoglobulin Y directed against *Escherichia coli* on growth performance, diarrhea incidence, and immune system in calves. *Animal*, *15*(2), 100124. doi: 10.1016/j.animal.2020.100124

Kong, X. F., Yin, Y. L., He, Q. H., Yin, F. G., Liu, H. J., Li, T. J., & Wu, G. Y. (2009). Dietary supplementation with Chinese herbal powder enhances ileal digestibilities and serum concentrations of amino acids in young pigs. *Amino Acids*, *37*, 573-582. doi: 10.1007/s00726-008-0176-9

Kong, X. F., Wu, G., & Yin, Y. L. (2011). Roles of phytochemicals in amino acid nutrition. *Frontiers in Bioscience*, *3*, 372-384. doi: 10.2741/s157

Li, L. L., Hou, Z. P., Li, T. J., Wu, G. Y., Huang, R. L., Tang, Z. R., & Yin, Y. L. (2008). Effects of dietary probiotic supplementation on ileal digestibility of nutrients and growth performance in 1-to 42-day-old broilers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *88*(1), 35-42. doi: 10.1002/jsfa.2910

Liang, Y., Hudson, R. E., & Ballou, M. A. (2020). Supplementing neonatal Jersey calves with a blend of probiotic bacteria improves the pathophysiological response to an oral *Salmonella enterica* serotype Typhimurium challenge. *Journal of Dairy Science*, *103*(8), 7351-7363. doi: 10.3168/jds.2019-17480

Malmuthuge, N., Griebel, P. J., & Guan, L. L. (2015). The gut microbiome and its potential role in the development and function of newborn calf gastrointestinal tract. *Frontiers in Veterinary Science*, *2*, 36. doi: 10.3389/fvets.2015.00036

Marquez, J. C. (2014). Calf intestinal health: assessment and dietary interventions for its improvement. University of Illinois at Urbana-Champaign, USA. Pp. 25-30.

McGuirk, S. M. (2008). Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *24*(1), 139-153. doi: 10.1016/j.cvfa.2007.10.003

Meganck, V., Hoflack, G., Piepers, S., & Opsomer, G. (2015). Evaluation of a protocol to reduce the incidence of neonatal calf diarrhoea on dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, *118*(1), 64-70. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.11.007

Nauerby, B., Pedersen, K., & Madsen, M. (2003). Analysis by pulsed-field gel electrophoresis of the genetic diversity among Clostridium perfringens isolates from chickens. *Veterinary Microbiology*, *94*(3), 257-266. doi: 10.1016/S0378-1135(03)00118-4

Naylor, J. M., Petrie, L., Rodriguez, M. I., & Skilnick, P. (1990). A comparison of three oral electrolyte solutions in the treatment of diarrheic calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 31(11), 753.

Østerås, O., Gjestvang, M. S., Vatn, S., & Sølverød, L. (2007). Perinatal death in production animals in the Nordic countries–incidence and costs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *49*(1), 1-4. doi: 10.1186/1751-0147-49-S1-S14

Özpinar, H., Erhard, M. H., Aytug, N., Özpinar, A., Baklaci, C., Karamüptüoglu, S., & Lösch, U. (1996). Dose-dependent effects of specific egg-yolk antibodies on diarrhea of newborn calves. *Preventive Veterinary Medicine*, *27*(1-2), 67-73. doi: 10.1016/0167-5877(95)00561-7

Pabst, O., Cerovic, V., & Hornef, M. (2016). Secretory IgA in the coordination of establishment and maintenance of the microbiota. *Trends in Immunology*, *37*(5), 287-296. doi: 10.1016/j.it.2016.03.002

Pereira, E. P., Van Tilburg, M. F., Florean, E. O., & Guedes, M. I. (2019). Egg yolk antibodies (IgY) and their applications in human and veterinary health: A review. *International Immunopharmacology*, *73*, 293-303. doi: 10.1016/j.intimp.2019.05.015

Renaud, D. L., Kelton, D. F., Weese, J. S., Noble, C., & Duffield, T. F. (2019). Evaluation of a multispecies probiotic as a supportive treatment for diarrhea in dairy calves: A randomized clinical trial. *Journal of Dairy Science*, *102*(5), 4498-4505. doi: 10.3168/jds.2018-15793

Roos, K., & Holm, S. (2002). The use of probiotics in head and neck infections. *Current Infectious Disease Reports*, *4*(3), 211-216. doi: 10.1007/s11908-002-0081-4

Shehta, A., Omran, H., Kiroloss, F., & Azmi, M. (2019). Effect of probiotic on growth performance and frequency of diarrhea in neonatal buffalo calves. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, *7*(10), 876-881. doi: 10.17582/journal.aavs/2019/7.10.876.881

Signorini, M. L., Soto, L. P., Zbrun, M. V., Sequeira, G. J., Rosmini, M. R., & Frizzo, L. S. (2012). Impact of probiotic administration on the health and fecal microbiota of young calves: a meta-analysis of randomized controlled trials of lactic acid bacteria. *Research in Veterinary Science*, *93*(1), 250-258. doi: 10.1016/j.rvsc.2011.05.001

Sivula, N. J., Ames, T. R., Marsh, W. E., & Werdin, R. E. (1996). Descriptive epidemiology of morbidity and mortality in Minnesota dairy heifer calves. *Preventive Veterinary Medicine*, *27*(3-4), 155-171. doi: 10.1016/0167-5877(95)01000-9

Soberon, F., Raffrenato, E., Everett, R. W., & Van Amburgh, M. E. (2012). Preweaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *95*(2), 783-793. doi: 10.3168/jds.2011-4391

Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermúdez-Humarán, L. G., Gratadoux, J. J., & Langella, P. (2008). Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(43), 16731-16736. doi: 10.1073/pnas.0804812105

Stefańska, B., Sroka, J., Katzer, F., Goliński, P., & Nowak, W. (2021). The effect of probiotics, phytobiotics and their combination as feed additives in the diet of dairy calves on performance, rumen fermentation and blood metabolites during the preweaning period. *Animal Feed Science and Technology*, *272*, 114738. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2020.114738

Swedzinski, C., Froehlich, K. A., Abdelsalam, K. W., Chase, C., Greenfield, T. J., Koppien-Fox, J., & Casper, D. P. (2020). Evaluation of essential oils and a prebiotic for newborn dairy calves. *Translational Animal Science*, *4*(1), 75-83. doi: 10.1093/tas/txz150

Timmerman, H. M., Mulder, L., Everts, H., Van Espen, D. C., Van Der Wal, E., Klaassen, G., & Beynen, A. C. (2005). Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *Journal of Dairy Science*, *88*(6), 2154-2165. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72891-5

Tulstrup, M. V. L., Christensen, E. G., Carvalho, V., Linninge, C., Ahrné, S., Højberg, O., & Bahl, M. I. (2015). Antibiotic treatment affects intestinal permeability and gut microbial composition in Wistar rats dependent on antibiotic class. *PloS One*, *10*(12), e0144854. doi: 10.1371/journal.pone.0144854

Urie, N. J., Lombard, J. E., Shivley, C. B., Kopral, C. A., Adams, A. E., Earleywine, T. J., & Garry, F. B. (2018). Preweaned heifer management on US dairy operations: Part V. Factors associated with morbidity and mortality in preweaned dairy heifer calves. *Journal of Dairy Science*, *101*(10), 9229-9244. doi: 10.3168/jds.2017-14019

Vega, C. G., Bok, M., Ebinger, M., Rocha, L. A., Rivolta, A. A., González Thomas, V., & Wigdorovitz, A. (2020). A new passive immune strategy based on IgY antibodies as a key element to control neonatal calf diarrhea in dairy farms. *BMC Veterinary Research*, *16*, 1-9. doi: 10.1186/s12917-020-02476-3

Vi, R. B., McLeod, K. R., Klotz, J. L., & Heitmann, R. N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *Journal of Dairy Science*, *87*, E55-E65. doi: 0.3168/jds.S0022-0302(04)70061-2

Villot, C., Chen, Y., Pedgerachny, K., Chaucheyras-Durand, F., Chevaux, E., Skidmore, A., & Steele, M. A. (2020). Early supplementation of Saccharomyces cerevisiae boulardii CNCM I-1079 in newborn dairy calves increases IgA production in the intestine at 1 week of age. *Journal of Dairy Science*, *103*(9), 8615-8628. doi: 10.3168/jds.2020-18274

Waltner-Toews, D., Martin, S. W., & Meek, A. H. (1986). The effect of early calfhood health status on survivorship and age at first calving. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *50*(3), 314.

Wehnes, C. A., Novak, K. N., Patskevich, V., Shields, D. R., Coalson, J. A., Smith, A. H., & Rehberger, T. G. (2009). Benefits of supplementation of an electrolyte scour treatment with a Bacillus-based direct-fed microbial for calves. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *1*, 36-44. doi: 10.1007/s12602-008-9004-5

Xiao, J. X., Alugongo, G. M., Chung, R., Dong, S. Z., Li, S. L., Yoon, I., & Cao, Z. J. (2016). Effects of Saccharomyces cerevisiae fermentation products on dairy calves: Ruminal fermentation, gastrointestinal morphology, and microbial community. *Journal of Dairy Science*, *99*(7), 5401-5412. doi: 10.3168/jds.2015-10563

Xu, Y., Li, X., Jin, L., Zhen, Y., Lu, Y., Li, S., & Wang, L. (2011). Application of chicken egg yolk immunoglobulins in the control of terrestrial and aquatic animal diseases: a review. *Biotechnology Advances*, *29*(6), 860-868. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.07.003

Zhang, L., Jiang, X., Liu, X., Zhao, X., Liu, S., Li, Y., & Zhang, Y. (2019). Growth, health, rumen fermentation, and bacterial community of Holstein calves fed Lactobacillus rhamnosus GG during the preweaning stage. *Journal of Animal Science*, *97*(6), 2598-2608. doi: 10.1093/jas/skz126

Zhang, R., Zhou, M., Tu, Y., Zhang, N. F., Deng, K. D., Ma, T., & Diao, Q. Y. (2016). Effect of oral administration of probiotics on growth performance, apparent nutrient digestibility and stress-related indicators in Holstein calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *100*(1), 33-38. doi: 10.1111/jpn.12338

Zhen, Y. H., Jin, L. J., Guo, J., Li, X. Y., Lu, Y. N., Chen, J., & Xu, Y. P. (2008). Characterization of specific egg yolk immunoglobulin (IgY) against mastitis-causing *Escherichia coli*. *Veterinary Microbiology*, *130*(1-2), 126-133. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.12.014