



## "مقاله پژوهشی"

# مقایسه اثرات افزودنی‌های خوراکی جایگزین آنتی‌بیوتیک در پیشگیری از آنتریت نکروتیک تحت بالینی در جوجه‌های گوشتی

معصومه قیامت‌یون<sup>۱</sup>، مازیار محیطی اصلی<sup>۲</sup> و نریمان میراعلمی<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران  
۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، (نویسنده مسئول: mmohiti@guilan.ac.ir)  
۳- دامپزشک، شرکت آزمون سلامت ایرانیان، رشت، ایران  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۲  
صفحه: ۱۱ تا ۲۰

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** چندین دهه است که آنتی‌بیوتیک‌ها به طور گسترده در تولید حیوانات جهت افزایش رشد استفاده می‌شوند. با این حال، تمایل به کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در مواد خوراکی وجود دارد و در حال حاضر در اروپا قوانین جدیدی برای ممنوعیت استفاده از آن‌ها وضع شده است. در نتیجه، بیماری‌های مهم اقتصادی، مانند آنتریت نکروتیک (NE) جوجه‌ها، که توسط کلوستریدیوم پرفرینجنس ایجاد می‌شوند، شایع‌تر شده‌اند. جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد با اثر بر میکروفلور روده می‌توانند بر سلامت دستگاه گوارش و عملکرد جوجه‌های گوشتی مؤثر باشند. این آزمایش با هدف مقایسه اثرات افزودنی‌های خوراکی جایگزین آنتی‌بیوتیک در پیشگیری از آنتریت نکروتیک تحت بالینی در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** آزمایش با استفاده از ۳۳۶ قطعه جوجهی گوشتی نر یک روزه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار، ۴ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. تیمارها شامل: ۱- شاهد منفی (جیره بر پایه ذرت-کنجاله‌ی سویا، بدون افزودنی)؛ ۲- شاهد مثبت (جیره حاوی گندم و پودر ماهی، بدون افزودنی)؛ ۳- آنتی‌بیوتیک (جیره شاهد مثبت+باسیتراکسین-روی)؛ ۴- پروبیوتیک (جیره شاهد مثبت+پروبیوتیک)؛ ۵- پری‌بیوتیک (جیره شاهد مثبت+پری‌بیوتیک)؛ ۶- فیتوبیوتیک (جیره شاهد مثبت+فیتوبیوتیک)؛ و ۷- اسید آلی (جیره شاهد مثبت+اسید آلی) بودند.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که افزودن آنتی‌بیوتیک یا جایگزین‌های آن به جیره‌ی شاهد مثبت اثری بر میانگین مصرف روزانه خوراک، افزایش وزن روزانه‌ی جوجه‌ها، ضریب تبدیل غذایی در کل دوره و وزن نسبی اندام‌های داخلی نداشت ( $p > 0.05$ ). بررسی جمعیت باکتریایی سکوم‌ها در سن ۴۱ روزگی نشان داد که جوجه‌ها به بیماری آنتریت نکروتیک تحت بالینی مبتلا شدند. شمار کلوستریدیوم پرفرینجنس در جوجه‌های تغذیه شده با فیتوبیوتیک یا آنتی‌بیوتیک به طور معنی‌داری کمتر از جوجه‌های گروه شاهد منفی و شاهد مثبت بود ( $p < 0.05$ ). جوجه‌هایی که پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و اسید آلی را در جیره دریافت کردند، نسبت به تیمار شاهد مثبت، شمار کلوستریدیوم پرفرینجنس کمتری در سکوم‌ها داشتند ( $p < 0.05$ ). هر چند اختلاف آن‌ها با تیمار شاهد منفی معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** طبق بررسی نتایج در سنین ۲۹ و ۴۱ روزگی، افزودن فیتوبیوتیک در مقایسه با آنتی‌بیوتیک، شمار لاکتوباسیل‌ها را افزایش داد در حالیکه شمار کلوستریدیوم پرفرینجنس و کلی‌فرم‌ها را کاهش داد. بنابراین، فیتوبیوتیک می‌تواند جایگزینی مناسبی برای آنتی‌بیوتیک، جهت بهبود سلامت دستگاه گوارش و پیشگیری از آنتریت نکروتیک تحت بالینی در جوجه‌های گوشتی باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آنتریت نکروتیک، اسید آلی، پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، فیتوبیوتیک

## مقدمه

بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدانگلی و ضد میکروبی می‌تواند سبب تغییر طعم و مزه خوراک شوند و افزایش ترشح بزاق و صفرا را در طیور تحریک نمایند (۲۱). برخلاف آنتی‌بیوتیک‌ها، این ترکیبات اثرات سوئی بر مصرف‌کننده نداشتند و می‌توانند سبب افزایش ایمنی، بهبود بازده و عملکرد حیوان، بهبود وضعیت سلامت و عملکرد دستگاه گوارش و کاهش آسیب‌های روده‌ای ناشی از بیماری‌ها شوند (۲۱). علاوه بر این، اسیدی کردن دستگاه گوارش با افزودن اسیدهای آلی به خوراک، سبب کاهش pH و محدود شدن رشد باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش می‌شود که در نهایت افزایش رشد و بازده خوراک در جوجه‌ها را به دنبال دارد (۱). بیماری آنتریت نکروتیک (تورم و التهاب روده) از شایع‌ترین ناهنجاری‌های گوارشی پرخطر و مشکل اقتصادی بسیار مهم صنعت طیور در سراسر جهان محسوب می‌گردد (۲۸). نوع بالینی و تحت‌بالینی این بیماری در اثر استقرار نوع A (تولیدکننده  $\alpha$  توکسین) و به ندرت توسط نوع C (تولیدکننده  $\alpha$  و  $\beta$  توکسین) باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنس و مهاجرت آن از روده‌ی بزرگ و سکوم به روده‌ی باریک صورت می‌گیرد (۲۸). جمعیت باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنس در پرندگان سالم به طور معمول کمتر از  $10^4$  کلنی در هر گرم و در پرندگان مبتلا به حدود  $10^7$  الی  $10^9$  کلنی در هر گرم

دستگاه گوارش طیور یکی از مهم‌ترین اندام‌های بدن است که حفظ سلامت آن برای دستیابی به بازده مناسب خوراک مصرفی ضروری است. در گذشته، برای بهبود عملکرد دستگاه گوارش طیور از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف محرک رشد استفاده می‌شد. کاربرد این آنتی‌بیوتیک‌ها از اواسط دهه ۱۹۵۰، با مجوز سازمان غذا و دارو در ایالات متحده مرسوم شد (۳). اما به دلیل پیدایش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در دام و طیور و خطر انتقال این سویه‌ها به انسان، اتحادیه‌ی اروپا در سال ۲۰۰۶ مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را ممنوع اعلام کرد (۱۴). این مسأله سبب شد تا متخصصین تغذیه به دنبال جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند که بتوانند بر جمعیت میکروبی مضر دستگاه گوارش اثر بازدارنده داشته باشند، ضمن آن‌که مشکلات جانبی ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را نداشته باشند (۷). محصولات جایگزین آنتی‌بیوتیک که برای بهبود سلامت و عملکرد حیوانات پیشنهاد شدند شامل پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، فیتوبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی می‌باشند. پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به دلیل آثار سودمندی که در پیشگیری از شیوع برخی بیماری‌های گوارشی دارند، انتخاب مناسبی در تغذیه طیور به منظور کاهش مشکلات گوارشی محسوب می‌شوند. افزودنی‌های فیتوژنیک، با دارا

تعداد ۳۳۶ قطعه جوجه‌ی گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ از جنس نر با میانگین وزنی ۴۴ گرم بر روی بستری از تراشه‌های چوب، داخل پن‌هایی به ابعاد ۱/۶×۰/۸ متر تا سن ۴۲ روزگی پرورش یافتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار، ۴ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. تیمارهای اول و دوم به ترتیب، با جیره شاهد منفی (جیره بر پایه ذرت-کنجاله‌ی سویا) و جیره شاهد مثبت (جیره حاوی گندم و پودر ماهی) که مطابق نیازهای غذایی جوجه‌های گوشتی راس ۳۰۸ در سه فاز آغازین (۱۰۰- روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) فرموله شده بود و فاقد افزودنی خوراکی بودند، تغذیه شدند (جدول ۱). افزودن گندم و پودر ماهی به جیره شاهد مثبت با هدف افزایش حساسیت به درگیری با آنتریت نکروتیک انجام شد. تیمارهای ۳ تا ۷ به ترتیب با جیره شاهد مثبت حاوی آنتی‌بیوتیک (باسیتراسین به مقدار ۰/۱ گرم در کیلوگرم)، پروبیوتیک (Bioplus2; Chr. Hansen, Denmark) به مقدار ۰/۴ گرم در کیلوگرم، پری‌بیوتیک (Diamond V, XPC; USA) به مقدار ۱ گرم در کیلوگرم، فیتوبیوتیک O.X.Plant؛ شرکت دانش بنیان فناوری نوین آکام به مقدار ۰/۲ گرم در کیلوگرم) و اسید آلی (Bioacid ultra؛ شرکت دانش بنیان فناوری نوین آکام به مقدار ۲ گرم در کیلوگرم) تغذیه شدند.

فضولات می‌رسد (۲۳). هزینه‌ی جهانی این بیماری با توجه به میزان تلفات، عملکرد ضعیف و هزینه‌ی پیشگیری و درمان تا ۲ میلیارد دلار در سال تخمین زده شده است (۲۲). مصرف مقادیر زیاد گندم و جو از مهم‌ترین عوامل مستعدکننده‌ی بیماری آنتریت نکروتیک است که به دلیل دارا بودن پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول در آب مانند بتاگلوکان و آرابینوزایلان‌ها، سبب افزایش ویسکوزیته هضمی، افزایش رشد باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس و کند شدن سرعت عبور مواد غذایی در روده می‌شوند (۳۴). همچنین وجود پروتئین‌های حیوانی در جیره به خصوص پودر ماهی، به دلیل دارا بودن درصد بالای پروتئین، سبب افزایش pH روده می‌شود و محیط را برای رشد بهتر باکتری‌های مضر از جمله باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس مناسب می‌کند (۳۸). هدف از این پژوهش، مقایسه‌ی اثر جایگزین‌های مختلف آنتی‌بیوتیک در پیشگیری از بیماری آنتریت نکروتیک، افزایش سلامت دستگاه گوارش و بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی بود.

## مواد و روش‌ها

### پرنده‌ها، تیمارهای آزمایشی و مدیریت پرورش

جدول ۱- اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره‌ی غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی

Table 1. Ingredients and chemical components of the diets of broiler chickens in the starter, grower and finisher phases

شاهد مثبت		شاهد منفی		اجزای جیره (درصد)	
پایانی	رشد	آغازین	پایانی	رشد	آغازین
۲۳/۷۱	۳۲/۵۱	۳۱/۵۶	۵۹/۴۱	۵۴/۶۱	۵۲/۱۵
۱۷/۷۲	۲۴/۵۷	۳۳/۳۲	۳۲/۹۵	۳۸/۲۱	۳۹/۸۰
۴۵/۰۰	۴۰/۰۰	۲۵/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
۹/۸۲	۸/۳۱	۶/۱۱	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
۱/۵۴	۱/۰۱	۰/۶۹	۳/۹۱	۳/۱۹	۱/۶۲
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱/۹۶
۰/۳۳	۰/۴۷	۰/۶۶	۰/۸۴	۰/۹۰	۰/۹۹
۰/۶۰	۰/۹۳	۱/۳۷	۱/۵۸	۱/۷۶	۱/۹۸
۰/۰۴	۰/۰۷	۰/۱۹	۰/۲۲	۰/۲۷	۰/۲۴
۰/۳۲	۰/۱۴	۰/۰۳	۰/۱۹	۰/۱۱	۰/۱۵
۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۰۵	۰/۰۷	۰/۱۱
۰/۲۰	۰/۲۴	۰/۲۹	۰/۲۶	۰/۲۸	۰/۳۱
۰/۲۰	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۲۰
۰/۱۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
۰/۱۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
<b>ترکیبات شیمیایی محاسبه شده</b>					
۳۰۵۰	۲۹۵۰	۲۸۵۰	۳۰۵۰	۲۹۵۰	۲۸۵۰
۱۹/۸۵	۲۱/۳۹	۲۲/۸۴	۱۸/۵۹	۲۰/۴۶	۲۲/۱۷
۱/۰۳	۱/۱۶	۱/۳۱	۱/۱۴	۱/۲۷	۱/۳۳
۰/۹۸	۱/۰۹	۱/۲۲	۰/۹۸	۱/۰۹	۱/۲۲
۰/۵۰	۰/۵۵	۰/۶۱	۰/۵۱	۰/۵۶	۰/۶۴
۰/۷۶	۰/۸۳	۰/۹۰	۰/۷۶	۰/۸۳	۰/۹۹
۰/۷۹	۰/۸۷	۰/۹۶	۰/۷۹	۰/۸۷	۰/۹۶
۰/۴۰	۰/۴۴	۰/۴۸	۰/۴۰	۰/۴۴	۰/۴۸
۰/۲۰	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۲۳	۰/۲۳
۰/۶۵	۰/۷۴	۰/۸۵	۰/۷۸	۰/۸۷	۰/۸۹
۲۱۰	۲۱۰	۲۲۰	۲۱۰	۲۲۳	۲۲۸
تبادل الکترولیت‌ها (میلی اکی والان / کیلوگرم)					

۱- مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۱۸ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲ میلی‌گرم K<sub>3</sub>، ۱/۸ میلی‌گرم B<sub>1</sub>، ۶/۶ میلی‌گرم B<sub>2</sub>، ۳۰ میلی‌گرم B<sub>3</sub>، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B<sub>5</sub>، ۳ میلی‌گرم B<sub>6</sub>، ۱ میلی‌گرم B<sub>12</sub>، ۰/۱۵ میلی‌گرم H<sub>2</sub>، ۵۰۰ میلی‌گرم کولین و ۱ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان تأمین می‌نمود.  
۲- مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره مقدار ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۵ میلی‌گرم روی، ۱۰ میلی‌گرم مس، ۱ میلی‌گرم ید و ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم تأمین می‌نمود

جار بی‌هوازی قرار گرفتند. پس از انکوباسیون، تعداد کلنی‌ها شمارش شدند. به‌منظور تعیین CFU کلنی باکتری‌ها در مناسب‌ترین رقت که برای باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنس<sup>۵-۱۰</sup> و برای باکتری‌های لاکتوباسیلوس، کلی‌فرم و /اشریشیاکلی<sup>۶-۱۰</sup> بود، استفاده شد. مقادیر شمارش شده به صورت لگاریتم بر مبنای ۱۰ گزارش شدند (۱۸).

### تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده‌های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۴ تکرار، با استفاده از نرم‌افزار SAS و به رویه مدل خطی عمومی (GLM) آنالیز شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

#### عملکرد رشد

نتایج مربوط به عملکرد جوجه‌های گوشتی (خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک) که در جدول ۲ ارائه شده است، نشان می‌دهد که در دوره‌ی ۲۲ الی ۴۲ روزگی، مصرف خوراک روزانه‌ی تیمار شاهد منفی بیشتر از تیمارهای دریافت‌کننده‌ی جیره‌ی شاهد مثبت بود ( $p < 0.01$ ). در کل دوره‌ی پرورش نیز اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). در دوره‌ی ۲۲ الی ۴۲ روزگی، تمامی تیمارهای شاهد مثبت، افزایش وزن روزانه‌ی کمتری نسبت به گروه شاهد منفی داشتند ( $p < 0.01$ )، بنابراین هیچ‌کدام از افزودنی‌های خوراکی اثر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه‌ی جوجه‌ها در مقایسه با شاهد مثبت ایجاد نکردند ( $p > 0.05$ ). همچنین نتایج نشان داد که در کل دوره‌ی پرورش، افزایش وزن روزانه جوجه‌های دریافت‌کننده جیره شاهد مثبت + افزودنی (به جز تیمار دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک) به طور معنی‌دار کمتر از تیمار شاهد منفی بود ( $p < 0.01$ ). در کل دوره‌ی پرورش ضریب تبدیل خوراک در تیمار شاهد منفی بهتر از تمام تیمارهایی بود که با جیره‌ی شاهد مثبت و جیره شاهد مثبت + افزودنی تغذیه شدند ( $p < 0.05$ ). ضریب تبدیل خوراک کل دوره پرورش، بین هیچ کدام از تیمارهای شاهد مثبت + افزودنی و تیمار شاهد مثبت اختلاف معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ).

جوجه‌ها در طول دوره آزمایش به آب و خوراک آزادانه دسترسی داشتند. از ابتدای ورود جوجه‌ها به داخل سالن، تمامی تیمارهای آزمایشی به‌جز شاهد منفی، با جیره‌ی حاوی مقادیر بالای گندم و پودر ماهی تغذیه شدند. در این آزمایش سعی شد که با استفاده از عوامل تغذیه‌ای که مستعدکننده‌ی این بیماری هستند، جمعیت باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنس را افزایش داده تا زمینه برای بروز بیماری آنتریت نکروتیک فراهم شود.

#### عملکرد رشد

وزن جوجه‌ها و مصرف خوراک به‌صورت هفتگی برای هر تکرار اندازه‌گیری شد. از این داده‌ها برای محاسبه افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل خوراک استفاده شد. وزن تلفات در صورت وقوع ثبت شد و محاسبات بر مبنای روز مرغ انجام گرفت.

#### شمارش کلنی‌های باکتریایی

در روز ۲۹ و ۴۱ آزمایش به ترتیب یک و دو قطعه جوجه از هر تکرار کشتار شدند و نمونه‌گیری از محتویات سکوم به منظور بررسی جمعیت میکروبی انجام گرفت. حدود یک گرم از محتویات سکوم جمع‌آوری و برای بررسی جمعیت ۴ گونه‌ی میکروبی کلی‌فرم، اشریشیاکلی، لاکتوباسیلوس و کلوستریدیوم پرفرینجنس به آزمایشگاه منتقل شد. ابتدا یک گرم از محتویات سکوم هر پرند را در لوله‌ی آزمایشی که حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات (PBS) بود ریخته شد و به مدت ۲ دقیقه ورنکس شد. سپس مرحله‌ی رقیق‌سازی تا  $10^{-6}$  تکرار شد. برای کشت باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنس فقط لوله‌ی اول حاوی PBS و سایر لوله‌ها حاوی ۱/۲ گرم کوک میت بود. به منظور کشت نمونه‌ها، ۲۰۰ میکرولیتر از هر یک از سری‌های رقت  $10^{-5}$  و  $10^{-6}$  برداشته و روی پلت‌های حاوی محیط کشت ریخته و با آنس کاملاً در سطح محیط کشت گسترش یافت. سپس محیط‌های کشت کلی‌فرم‌ها (MC) و /اشریشیاکلی (EMB) به انکوباتور منتقل شدند تا به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوباسیون شوند. محیط‌های کشت لاکتوباسیلوس (MRS) و کلوستریدیوم پرفرینجنس (TSC Agar) به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی، درون

جدول ۲- اثر جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک بر شاخص‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of antibiotic alternatives on performance parameters of broilers

تیمار آزمایشی		خوراک مصرفی روزانه (گرم)		افزایش وزن روزانه (گرم)		ضریب تبدیل خوراک	
روزگی	۰-۲۱	۲۲-۴۲	۰-۴۲	۲۲-۴۲	۰-۴۲	۲۲-۴۲	۰-۴۲
روزگی	روزگی	روزگی	روزگی	روزگی	روزگی	روزگی	روزگی
۱/۶۸ <sup>a</sup>	۴۶/۴	۱۱۰/۶	۳۲/۱	۷۵/۴ <sup>a</sup>	۶۵/۶ <sup>a</sup>	۲/۰۷	۱/۶۸ <sup>a</sup>
۱/۸۳ <sup>a</sup>	۳۷/۹	۱۴۰/۸ <sup>ab</sup>	۲۵/۹	۶۲/۳ <sup>b</sup>	۵۳/۸ <sup>b</sup>	۲/۲۶	۱/۸۳ <sup>a</sup>
شاهد مثبت + آنتی‌بیوتیک	۴۲/۲	۱۴۵/۷ <sup>ab</sup>	۲۸/۷	۶۵/۸ <sup>ab</sup>	۵۷/۴ <sup>ab</sup>	۲/۲۱	۱/۷۹ <sup>a</sup>
شاهد مثبت + پروبیوتیک	۳۷/۱	۱۳۰/۸ <sup>b</sup>	۲۵/۳	۵۹/۵ <sup>b</sup>	۵۲/۰ <sup>b</sup>	۲/۲۰	۱/۷۹ <sup>a</sup>
شاهد مثبت + پری‌بیوتیک	۳۷/۹	۱۳۱/۳ <sup>ab</sup>	۲۴/۹	۵۹/۶ <sup>b</sup>	۵۱/۵ <sup>b</sup>	۲/۱۹	۱/۸۰ <sup>a</sup>
شاهد مثبت + فیتوبیوتیک	۴۰/۰	۱۳۶/۰ <sup>ab</sup>	۲۶/۵	۶۰/۳ <sup>b</sup>	۵۳/۱ <sup>b</sup>	۲/۲۶	۱/۸۳ <sup>a</sup>
شاهد مثبت + اسید آلی	۴۰/۳	۱۳۷/۲ <sup>ab</sup>	۲۶/۲	۶۰/۹ <sup>b</sup>	۵۳/۴ <sup>b</sup>	۲/۲۵	۱/۸۳ <sup>a</sup>
SEM	۱/۰۶	۲/۴۵	۱/۷۷	۰/۷۳	۱/۲۸	۰/۰۲	۰/۰۱۱
p-value	۰/۳۴۴	۰/۰۴۳	۰/۰۸۱	۰/۰۹۳	۰/۰۰۴	۰/۰۵۸	۰/۰۰۱

a,b,c حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

۱- جیره‌ی بر پایه ذرت - کنجاله سویا

۲- جیره‌ی حاوی گندم و پودر ماهی

## وزن نسبی اندام‌های داخلی

نتایج مربوط به وزن نسبی اندام‌های داخلی در روز ۴۱ پرورش در جدول ۳ نشان داده شده است. وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال، به‌عنوان دو اندام لنفاوی مرتبط با

سیستم ایمنی، تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت و تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). هیچ کدام از تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر وزن کبد نداشتند ( $p > 0.05$ ).

جدول ۳- اثر جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک بر وزن نسبی اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی در ۴۱ روزگی (درصد وزن زنده)  
Table 3. Effect of antibiotic alternatives on relative weight of internal organs of broilers at d 41 (% Live weight)

تیمارها	کبد	پانکراس	پیش معده	سنگدان	فابریسیوس بورس	طحال	چربی محوطه بطنی
شاهد منفی <sup>۱</sup>	۲/۰۲	۰/۲۴	۰/۳۱	۱/۳۹	۰/۱۶	۰/۱۰	۱/۲۹
شاهد مثبت <sup>۱</sup>	۲/۰۳	۰/۲۴	۰/۳۹	۱/۴۲	۰/۱۸	۰/۱۲	۱/۳۰
شاهد مثبت + آنتی‌بیوتیک	۲/۲۱	۰/۲۴	۰/۳۷	۱/۳۸	۰/۱۷	۰/۱۲	۱/۲۸
شاهد مثبت + پروبیوتیک	۲/۱۴	۰/۲۵	۰/۳۸	۱/۷۲	۰/۱۵	۰/۱۲	۱/۴۵
شاهد مثبت + پری‌بیوتیک	۲/۳۲	۰/۲۵	۰/۳۹	۱/۴۰	۰/۱۶	۰/۱۱	۱/۳۹
شاهد مثبت + فیتوبیوتیک	۲/۰۲	۰/۲۳	۰/۳۵	۱/۳۲	۰/۱۷	۰/۱۰	۱/۳۷
شاهد مثبت + اسید آلی	۲/۱۰	۰/۲۳	۰/۳۶	۱/۴۶	۰/۱۸	۰/۰۹	۱/۴۳
SEM	۰/۰۲۵	۰/۰۰۶	۰/۰۰۸	۰/۰۳۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۵۲
p-value	۰/۲۱۴	۰/۹۲۹	۰/۲۳۹	۰/۱۰۰	۰/۸۵۴	۰/۱۵۹	۰/۹۴۲

a,b,c: حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

۱- جیره‌ی بر پایه ذرت - کنجاله سویا

۲- جیره‌ی حاوی گندم و پودر ماهی

## جمعیت میکروبی محتویات سکوم

اثر جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک بر شمار جمعیت میکروبی محتوای سکوم جوجه‌های گوشتی در روز ۲۹ پرورش در جدول ۴ آمده است. در ۲۹ روزگی، جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌ی شاهد مثبت (حاوی گندم و پودر ماهی)، شمار باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس بیشتری در سکوم، در

مقایسه با سایر تیمارها داشتند ( $p < 0.01$ ). جوجه‌هایی که آنتی‌بیوتیک باسیتراسین و به خصوص افزودنی گیاهی O.X.Plant را در جیره‌ی شاهد مثبت دریافت نمودند، در مقایسه با جوجه‌های تیمار شاهد منفی و مثبت، شمار باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس کمتری در ناحیه‌ی سکوم در ۲۹ روزگی داشتند ( $p < 0.05$ ).

جدول ۴- اثر جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک بر شمار میکروفلور محتوای سکوم جوجه‌های گوشتی در روز ۲۹ پرورش  
Table 4. Effect of antibiotic alternatives on cecal microflora count of broilers at d 29

تیمار آزمایشی	کلی‌فرم ( $10^6$ کلنی / گرم)	اشریشیا کلی ( $10^6$ کلنی / گرم)	لاکتوباسیلوس ( $10^6$ کلنی / گرم)	کلستریدیوم پرفرینجنس ( $10^5$ کلنی / گرم)
شاهد منفی <sup>۱</sup>	۸/۲	۷/۲	۷/۸	۵/۸ <sup>ab</sup>
شاهد مثبت <sup>۱</sup>	۸/۳	۷/۴	۶/۹	۶/۳ <sup>a</sup>
شاهد مثبت + آنتی‌بیوتیک	۷/۶	۶/۵	۸/۲	۵/۱ <sup>bc</sup>
شاهد مثبت + پروبیوتیک	۷/۵	۷/۱	۷/۷	۵/۶ <sup>abc</sup>
شاهد مثبت + پری‌بیوتیک	۶/۹	۶/۲	۷/۸	۵/۱ <sup>bc</sup>
شاهد مثبت + فیتوبیوتیک	۷/۹	۷/۱	۸/۴	۴/۸ <sup>c</sup>
شاهد مثبت + اسید آلی	۷/۸	۶/۷	۸/۲	۵/۳ <sup>bc</sup>
SEM	۰/۱۴	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۱۱
p-value	۰/۱۴۵	۰/۱۲۸	۰/۰۷۴	۰/۰۰۵

a,b,c: حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

۱- جیره‌ی بر پایه ذرت - کنجاله سویا

۲- جیره‌ی حاوی گندم و پودر ماهی

نتایج مربوط به شمارش برخی باکتری‌های سکوم جوجه‌های گوشتی در روز ۴۱ پرورش در جدول ۵ نشان داده شده است. جوجه‌های تغذیه شده با تیمار شاهد مثبت در مقایسه با تیمار شاهد منفی و سایر تیمارها، شمار کلی‌فرم‌های بیشتری داشتند ( $p < 0.05$ ) و کمترین تعداد از این باکتری نیز در تیمار شاهد مثبت همراه با فیتوبیوتیک مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). تفاوت معنی‌داری در جمعیت باکتری اشریشیا کلی سکوم بین جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های مختلف مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). شمار باکتری‌های لاکتوباسیلوس در تیمار تغذیه شده با فیتوبیوتیک‌ها نسبت به تیمارهای شاهد منفی و

مثبت بسیار بیشتر بود ( $p < 0.01$ ). تعداد باکتری‌های کلستریدیوم پرفرینجنس در سکوم جوجه‌های تغذیه شده با جیره شاهد مثبت بیشتر از سایر تیمارها بود ( $p < 0.05$ ). در جوجه‌های تغذیه شده با فیتوبیوتیک و آنتی‌بیوتیک باسیتراسین شمار کلستریدیوم پرفرینجنس به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود و این تفاوت در مقایسه با شاهد منفی و شاهد مثبت معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). همچنین افزودنی فیتوبیوتیک توانست بهتر از آنتی‌بیوتیک باسیتراسین در راستای کاهش شمار باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس عمل نماید.

جدول ۵- اثر جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک بر شمار میکروفلور محتوای سکوم جوجه‌های گوشتی در روز ۴۱ پرورش  
Table 5. Effect of antibiotic alternatives on cecal microflora count of broilers at d 41

تیمار آزمایشی	کلی‌فرم ( $10^6$ کلنی/گرم)	اشریشیا کلی ( $10^6$ کلنی/گرم)	لاکتوباسیلوس ( $10^6$ کلنی/گرم)	کلستریدیوم پرفرینجنس ( $10^5$ کلنی/گرم)
شاهد منفی <sup>۱</sup>	۹/۰ <sup>ab</sup>	۸/۴	۸/۸ <sup>b</sup>	۷/۵ <sup>b</sup>
شاهد مثبت <sup>۲</sup>	۹/۷ <sup>a</sup>	۸/۷	۷/۸ <sup>c</sup>	۸/۵ <sup>a</sup>
شاهد مثبت + آنتی‌بیوتیک	۸/۴ <sup>bc</sup>	۸/۲	۹/۳ <sup>ab</sup>	۶/۷ <sup>c</sup>
شاهد مثبت + پروبیوتیک	۸/۹ <sup>b</sup>	۸/۵	۹/۰ <sup>ab</sup>	۷/۲ <sup>bc</sup>
شاهد مثبت + پری‌بیوتیک	۸/۹ <sup>b</sup>	۸/۷	۹/۱ <sup>ab</sup>	۷/۰ <sup>bc</sup>
شاهد مثبت + فیتوبیوتیک	۷/۹ <sup>c</sup>	۷/۸	۹/۴ <sup>a</sup>	۶/۵ <sup>c</sup>
شاهد مثبت + اسید آلی	۹/۰ <sup>ab</sup>	۸/۶	۹/۰ <sup>ab</sup>	۷/۱ <sup>bc</sup>
SEM	۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۱۰	۰/۱۳
P-value	۰/۰۰۱	۰/۰۸۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

a,b,c: حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

۱- جیره‌ی بر پایه ذرت- کنجاله سویا

۲- جیره‌ی حاوی گندم و پودر ماهی

تنها در آزمایش سین‌بیوتیک در سه هفتگی اثر معنی‌داری نشان داد. هم‌چنین، یو و همکاران (۴۱) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روتری سویه Pg4 در جیره، وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. متفاوت بودن اثرات پروبیوتیک‌ها بر جوجه‌ها، احتمالاً به نوع پروبیوتیک (تفاوت سویه) و شکل باکتری‌های مورد استفاده، مقدار مصرف، طریقه مصرف (در آب یا خوراک)، سن پرندگان و شرایط محیطی مربوط می‌شود. به‌علاوه، عوامل بسیاری از جمله تغذیه و محیط نیز اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۴۲).

اسیدهای آلی با کاهش pH دستگاه گوارش و اثرات ضد میکروبی، سبب افزایش دسترسی میزبان به مواد مغذی می‌شوند، که می‌تواند به افزایش سرعت رشد علی‌رغم مصرف کمتر خوراک منتهی شود (۱). هرچند برخی از گزارشات حاکی از آن است که استفاده از اسیدهای آلی در جیره سبب بهبود افزایش وزن و نهایتاً عملکرد طیور می‌شود (۱). در مقابل گزارشاتی مبنی بر عدم تأثیر مثبت این ترکیبات در تغذیه‌ی جوجه‌های گوشتی وجود دارد (۱۶). اثر فیتوبیوتیک‌ها بر عملکرد رشد بسیار متفاوت است که ممکن است به علت تفاوت در افزودنی‌های گیاهی، غلظت‌ها و فعالیت‌های بیولوژیکی باشد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که فیتوبیوتیک‌ها به دلیل فعالیت ضد میکروبی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی می‌توانند اثرات محرک رشد داشته باشند (۲۱). هم‌چنین فیتوبیوتیک‌ها با تحریک ترشح آنزیم‌های هضمی و بهبود طعم و بو سبب افزایش مصرف خوراک می‌شوند (۲۶). اما در گزارشات دیگری، افزودن فیتوبیوتیک به جیره‌ی جوجه‌های گوشتی و تخم‌گذار، سبب کاهش مصرف خوراک شده است (۲۵). علاوه بر این، پاسخ جوجه‌ها به یک افزودنی گیاهی ممکن است تحت تأثیر میزان مصرف، نوع جیره‌ی غذایی، سن، سلامت و شرایط محیط قرار بگیرد (۲). یکی از برجسته‌ترین نشانه ناهنجاری‌های گوارشی در جوجه‌های گوشتی، کاهش رشد است که با افت وزن پایان دوره، منجر به وارد شدن زیان‌های اقتصادی شدید به صنعت طیور می‌شود. در مطالعه‌ای نشان داده شد که هیچ تغییر قابل توجهی در افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با افزودنی‌های پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، فیتوبیوتیک و اسید آلی وجود نداشت (۴). هم‌چنین، در

در آزمایش حاضر، افزودن آنتی‌بیوتیک باسیتراسین یا افزودنی‌های جایگزین آن (پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، فیتوبیوتیک و اسید آلی) به جیره‌ی شاهد مثبت، اثری بر مصرف روزانه خوراک و افزایش وزن روزانه‌ی جوجه‌ها و ضریب تبدیل در کل دوره نداشت ( $p > 0.05$ ). اودیا و همکاران (۳۰) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک اثری بر میزان مصرف خوراک در کل دوره‌ی پرورش جوجه‌های گوشتی نداشت و افزودن آن به جیره موجب بهبود استفاده از مواد مغذی خوراک شده است. یگانه‌پرست و همکاران (۴۵) نیز دریافتند که آنتی‌بیوتیک و فیتوبیوتیک اثر معنی‌داری بر افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در کل دوره‌ی پرورش نداشت. هم‌چنین، طبق گزارش زو و همکاران (۴۴)، استفاده از پری‌بیوتیک بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی اثری نداشت. مژگانی و همکاران نیز گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک و فیتوبیوتیک اثر معنی‌داری بر افزایش وزن بدن جوجه‌ها نداشت (۲۷). در آزمایشی طاهری و همکاران (۳۹) با افزودن پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی، تفاوتی در مصرف خوراک بین تیمارها مشاهده نکردند. گانال و همکاران (۱۶) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی در جیره، اثری بر میزان مصرف خوراک نداشت، در حالی که برخی دیگر اظهار داشتند که افزودن اسید آلی به جیره، خوش‌خوراکی را کاهش داده و در نتیجه از میزان مصرف خوراک کاسته می‌شود. با توجه به نتیجه‌ی بدست آمده در این آزمایش و نیز تحقیقات دیگر در خصوص میزان خوراک مصرفی و نیز با در نظر گرفتن این نکته که در این بررسی‌ها، هیچ اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی تغذیه شده با جیره‌ی حاوی گندم و پودر ماهی وجود نداشت، بنابراین می‌توان گفت که افزودن این جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک، اثر معنی‌داری بر میزان خوراک مصرفی طیور ندارند و دلیل آن ممکن است اختلاف در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و شرایط محیط پرورش باشد.

کاهش مصرف خوراک، منجر به کاهش مصرف پروتئین و مواد مغذی دیگر خواهد شد که به نوبه خود سبب کاهش سرعت رشد می‌شود. این نتایج با یافته‌های جاناردهانا و همکاران (۱۹) موافق است. طبق گزارش یتباک و همکاران (۴۰)، در آزمایشی که با مکمل پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک انجام شد، تفاوت معنی‌داری بر عملکرد طیور مشاهده نشد،

اندکی بیشتر است. در داخل لوله آزمایش، این اثر ضدباکتریایی می‌تواند اثر نامطلوبی بر باکتری‌های مفید روده داشته باشد (۸). مطالعات نشان داده‌اند که امکان انتخاب ترکیبات فیتوژنیک با فعالیت شدید ضد میکروبی علیه عوامل بیماری‌زای روده وجود دارد، ضمن این‌که آسیبی به باکتری‌های مفید مانند *بیفیدوباکتیریا* و *لاکتوباسیل*‌ها وارد نشود (۳۶).

فیتوبیوتیک و پروبیوتیک‌ها با افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید، در جهت بهبود سلامت دستگاه گوارش طیور، اثرات مثبتی دارند (۲). فیتوبیوتیک‌ها به طور قابل توجهی، pH روده و تعداد کلی‌فرم‌ها را کاهش می‌دهد، که این نتیجه حاکی از بهبود سلامت دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی است (۸). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فیتوبیوتیک‌ها می‌توانند یک محرک رشد مؤثر در ازای مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای حفظ ایمنی مواد غذایی باشند (۱۳). در تحقیقی جمعیت کلی‌فرم‌ها در سکوم جوجه‌های تغذیه شده با افزودنی فیتوبیوتیک کمتر از پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک گزارش شده است (۱۳). برخی از مطالعات گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک و پری‌بیوتیک اثرات هم‌کوشی در حفظ تعادل میکروبی جوجه‌های گوشتی دارند (۴۶،۴۳). نتایج تحقیقی نشان داد که پروبیوتیک‌ها در اثر پدیده‌ی حذف رقابتی با کاهش جمعیت باکتری‌های گرم منفی و بیماری‌زا مانند *شرشیا* کلی، کلی‌فرم، *سالمونلا* و *ایمریا* و در نتیجه کاهش pH، سبب افزایش جمعیت باکتری‌های گرم مثبت سودمند نظیر *لاکتوباسیل*‌ها و *باسیلوس*‌های روده می‌شوند و بنابراین باکتری *کلوستریدیوم پرفرینجنس* را حذف می‌کند (۲۴). طبق گزارش طاهری و همکاران (۳۹)، استفاده از پروبیوتیک‌ها سبب کاهش جمعیت کلی‌باسیل‌ها در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی شد. در یک بررسی جامع توسط گایا و همکاران (۱۵)، فراوانی *لاکتوباسیل*‌ها و *بیفیدوباکتیریا* در میکروفلور دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پری‌بیوتیک گزارش شده است. افزایش *لاکتوباسیلوس*‌ها می‌تواند از رشد عوامل بیماری‌زای گرم منفی مانند *شرشیا* کلی و *سالمونلا* جلوگیری نماید (۳۴). *لاکتوباسیلوس*‌ها با *کلوستریدیوم*‌ها به رقابت می‌پردازند که این امر می‌تواند مانع بروز بیماری آنتریت نکروتیک در جوجه‌های گوشتی شود (۲۰). طبق گزارش ابرسیاج و همکاران (۱۱)، پری‌بیوتیک‌ها چسبندگی عوامل بیماری‌زا به آنتروسیست‌ها را در شرایط آزمایشگاهی مهار می‌کنند و از استقرار باکتری‌های بیماری‌زا در روده‌ی میزبان جلوگیری کرده و سبب رشد *بیفیدوباکتریوم*‌ها می‌شوند، در نتیجه به طور معنی‌داری ضایعات ناشی از بیماری آنتریت نکروتیک را در جوجه‌های گوشتی کاهش می‌دهند (۱۰). همچنین عامل تنوع اثرات پری‌بیوتیک‌ها بر جمعیت باکتری‌های دستگاه گوارش می‌تواند به دلیل تفاوت در شرایط آزمایش، فرمولاسیون جیره، فصل سال و وضع سلامتی گله مورد مطالعه باشد (۵).

طبق گزارش ام‌صادق و همکاران (۲۹)، در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی، کاهش معنی‌داری در جمعیت باکتری *کلوستریدیوم پرفرینجنس* ایلئوم و سکوم جوجه‌های گوشتی چالش‌یافته با

تحقیقی گزارش شده است که افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره، در میانگین خوراک مصرفی، میانگین افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک تفاوتی ایجاد نکرده است (۶). در این پژوهش، وزن اندام‌های گوارشی و اندام‌های حیاتی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر هیچ‌کدام از تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $p > 0.05$ ). به‌طور کلی هر عاملی که باعث افزایش فعالیت یک اندام در مقادیر بالاتر از آستانه فعالیت شود، می‌تواند از طریق واکنش‌های هایپرتروفیک باعث افزایش وزن آن اندام شود. نتایج بدست آمده با تحقیقات پاندا و همکاران (۳۳) و چو و همکاران (۸)، مطابقت دارد. در توجیه این نتایج می‌توان گفت که بازدهی لاشه، معیاری است که تحت تأثیر عوامل ژنتیکی نیز قرار می‌گیرد و تنها تحت تأثیر عوامل تغذیه‌ای نیست. گزارشات متناقضی در خصوص تأثیر افزودنی‌های محرک رشد و آنتی‌بیوتیک‌ها بر صفات لاشه‌ی جوجه‌های گوشتی وجود دارد. به نظر می‌رسد پاسخ جوجه‌های گوشتی نسبت به افزودنی‌های محرک رشد، بستگی به ترکیب جیره، سطوح مواد مغذی، سن و تراکم گله و همچنین ساختار ژنتیکی پرند دارد.

در تحقیق حاضر، گنجاندن سطوح بالای پودر ماهی و گندم در جیره شاهد مثبت توانست شیوع بیماری آنتریت نکروتیک تحت بالینی را تشدید نماید. بنابراین نوع مواد خوراکی جیره می‌تواند منجر به کاهش سرعت عبور مواد هضم‌شده و افزایش مدت زمان نگهداری آن در روده شود و در نتیجه سبب تسهیل استقرار و فعالیت باکتری‌ها در روده‌ی کوچک و نیز افت بازده غذایی و میزان رشد شود (۳۴،۱۲). کاهش سرعت عبور و کندتر هضم شدن خوراک در دستگاه گوارش، زمینه را برای رشد بیشتر *کلوستریدیوم* فراهم خواهد نمود. در نتیجه با فرموله کردن جیره‌های غذایی فاقد مواد ضد مغذی می‌توان شیوع بیماری آنتریت نکروتیک را کاهش داد (۲۸).

شمارش باکتری *کلوستریدیوم پرفرینجنس* در محتویات سکوم تیمارهای مورد آزمایش در روز ۴۱، نشان داد که جوجه‌ها مبتلا به آنتریت نکروتیک تحت بالینی شدند. طبق گزارش داهیا و همکاران (۱۰)، فرم خفیف بیماری سبب کاهش ۱۵ و ۲۳ درصدی در خوراک مصرفی و افزایش وزن و همچنین افزایش ۱۰ درصدی ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با تیمار شاهد می‌شوند. میکروفلور دستگاه گوارش طیور تحت تأثیر جیره‌ی غذایی قرار دارند، این میکروارگانیسم‌ها با یکدیگر ارتباط داشته و اثر بسیاری بر عملکرد فیزیولوژیکی میزبان می‌گذارند. برخی مطالعات اثر فیتوبیوتیک‌ها علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مانند باکتری‌های *شرشیا* کلی و *کلوستریدیوم پرفرینجنس*، ایجاد توازن ۰ در میکروفلور روده و بهبود سیستم ایمنی را گزارش کردند (۳۱). ترکیبات موجود در فیتوبیوتیک شامل تیمول و کاپسایسین به دلیل دارا بودن خاصیت ضد میکروبی سبب کاهش جمعیت میکروبی و سموم تولیدی حاصل از آن‌ها در مجرای روده می‌شوند، در نتیجه باعث نازک‌تر شدن دیواره‌ی روده شده و جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهند (۳۵). در شرایط آزمایشگاهی گزارشی شده است که فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی علیه باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی

محیط و شرایط خاص اسید مورد استفاده دارد. برای نمونه، باکتری‌های گرم منفی فقط به اسیدهای کمتر از ۸ اتم کربن حساس هستند، در حالی که باکتری‌های گرم مثبت به اسیدهایی با زنجیر بلندتر حساس می‌باشند (۳۲). اثر باکتری‌کشی اسیدهای آلی بیشتر روی باکتری‌های گرم منفی است، زیرا این باکتری‌ها در مقایسه با باکتری‌های دیگر به‌ویژه لاکتوباسیلوس‌ها مقاومت کمتری به محیط اسیدی دارند. آزاد شدن پروتون‌ها و آنیون‌های اسیدهای آلی، مانع تکثیر باکتری‌های گرم منفی خواهند شد، این در حالی است که باکتری‌های گرم مثبت تحت تأثیر اسید آلی قرار نمی‌گیرند (۳۷).

به‌طور کلی، بررسی میکروفلور روده در سن ۴۱ روزگی، نشان داد که جوجه‌ها مبتلا به آنتریت نکروتیک تحت‌بالینی شده‌اند. هم‌چنین کاهش میزان مصرف خوراک و وزن بدن، نشان داد که عفونت‌های ناشی از این بیماری بر رشد اثر منفی می‌گذارد. هر چند هیچ‌کدام از افزودنی‌های خوراکی، عملکرد رشد جوجه‌ها را در این شرایط بهبود ندادند، اما توانستند جمعیت کسترییدیوم پرفرینجنس را در سکوم کاهش دهند. استفاده از افزودنی فیتوبیوتیک راهکاری مناسب جهت بهبود سلامت دستگاه گوارش است که نسبت به سایر افزودنی‌های بررسی‌شده، اثرات بیشتری داشته و در پیشگیری از بروز بیماری آنتریت نکروتیک تحت بالینی مؤثر است.

### تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

عامل بیماری آنتریت نکروتیک که با جیره‌ی حاوی اسید آلی تغذیه شده بودند، مشاهده شد. مشخص شد که اسیدهای آلی از طریق ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های مضر در دیواره‌ی روده، سبب کاهش تولید ترکیبات سمی در روده می‌شوند (۲۹). تحقیقات انجام‌شده نشان داد که مخلوط اسیدهای آلی، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد، اثر بیشتری بر کاهش تعداد باکتری‌های /شرشیاکلی و سالمونلا موجود در میکروفلور روده طیور دارند (۱۷). در مطالعه‌ی دیگر، مکمل‌سازی جیره با مخلوطی از اسیدهای آلی، شمار لاکتوباسیلوس‌ها و انتروکوکوس‌ها را اندکی افزایش داد (۹). از این گذشته، مکمل‌سازی یک پروبیوتیک با مخلوطی از اسیدهای آلی کپسوله شده، فعالیت میکروبی ایلئوم و سکوم را تا اندازه‌ای تغییر داد، با این حال، تغییر عمده‌ای در ساختار جمعیت باکتریایی سکوم ایجاد نکرد (۹). در مطالعه دیگری، مخلوط اسیدهای آلی توانست تعداد کل باکتری‌های سکوم و ایلئوم و باکتری‌های گرم منفی را در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی نسبت به گروه شاهد کاهش دهد (۱۶). بیشتر میکروارگانیسم‌های مضر در pH حدود ۷ و میکروارگانیسم‌های مفید مانند لاکتوباسیل‌ها و انتروکوکوس‌ها در pH حدود ۶ رشد مطلوب دارند. کاهش pH دستگاه گوارش، مقدمه‌ی رشد لاکتوباسیل‌ها را فراهم نموده و در اثر رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها، شرایط همزیستی مفیدی برای میزان ایجاد می‌کند و میکروارگانیسم‌های فرصت‌طلب را از محیط حذف می‌نماید. میزان تأثیر اسیدهای آلی بر باکتری‌ها، بستگی به زمان در معرض قرار گرفتن آن‌ها، دمای

### منابع

- Adil, S., T. Banday, G.A. Bhat, M.S. Mir and M. Rehman. 2010. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. Veterinary Medicine International, 2010.
- Amad, A.A., K. Männer, K.R. Wendler, K. Neumann and J. Zentek. 2011. Effects of a phytogenic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. Poultry Science, 90(12): 2811-2816.
- Attia, Y.A., A.A. Bakhashwain and N.K. Bertu. 2018. Utilisation of thyme powder (*Thyme vulgaris* L.) as a growth promoter alternative to antibiotics for broiler chickens raised in a hot climate. European Poultry Science, 82.
- Botsoglou, N.A., S.H. Grigoropoulou, E. Botsoglou, A. Govaris and G. Papageorgiou. 2003. The effects of dietary oregano essential oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. Meat Science, 65(3): 1193-1200.
- Baurhoo, B., P.R. Ferket and X. Zhao. 2009. Effects of diets containing different concentrations of mannanoligosaccharide or antibiotics on growth performance, intestinal development, cecal and litter microbial populations, and carcass parameters of broilers. Poultry Science, 88(11): 2262-2272.
- Bozkurt, M., K. Küçükyılmaz, A.U. Çatli and M. Çinar. 2008. Growth performance and slaughter characteristics of broiler chickens fed with antibiotic, mannan oligosaccharide and dextran oligosaccharide supplemented diets. International Journal Poultry Science, 7(10): 969-977.
- Chand, N., H. Faheem, R.U. Khan, M.S. Qureshi, I.A. Alhidary and A.M. Abudabos. 2016. Anticoccidial effect of mannanoligosaccharide against experimentally induced coccidiosis in broiler. Environmental Science and Pollution Research, 23(14): 14414-14421.
- Cho, J.H., H.J. Kim and I.H. Kim. 2014. Effects of phytogenic feed additive on growth performance, digestibility, blood metabolites, intestinal microbiota, meat color and relative organ weight after oral challenge with *Clostridium perfringens* in broilers. Livestock Science, 160: 82-88.
- Czerwiński, J., O. Hojberg, S. Smulikowska, R.M. Engberg and A. Mieczkowska. 2010. Influence of dietary peas and organic acids and probiotic supplementation on performance and caecal microbial ecology of broiler chickens. British Poultry Science, 51(2): 258-269.

- ۱۸ ..... مقایسه اثرات افزودنی‌های خوراکی جایگزین آنتی‌بیوتیک در پیشگیری از آنتریت نکروتیک تحت بالینی در جوجه‌های گوشتی
10. Dahiya, J.P., D.C. Wilkie, A.G. Van Kessel and M.D. Drew. 2006. Potential strategies for controlling necrotic enteritis in broiler chickens in post-antibiotic era. *Animal Feed Science and Technology*, 129(1-2): 60-88.
  11. Ebersbach, T., J.B. Andersen, A. Bergström, R.W. Hutkins and T.R. Licht. 2012. Xylo-oligosaccharides inhibit pathogen adhesion to enterocytes in vitro. *Research in Microbiology*, 163(1): 22-27.
  12. Fafiolu, A.O., O.O. Oduguwa, A.V. Jegede, C.C. Tukura, I.D. Olarotimi, A.A. Teniola and J.O. Alabi. 2015. Assessment of enzyme supplementation on growth performance and apparent nutrient digestibility in diets containing undecorticated sunflower seed meal in layer chicks. *Poultry Science*, 94(8): 1917-1922.
  13. Ferdous, M.F., M.S. Arefin, M.M. Rahman, M.M.R. Ripon, M.H. Rashid, M.R. Sultana and K. Rafiq. 2019. Beneficial effects of probiotic and phytobiotic as growth promoter alternative to antibiotic for safe broiler production. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 6(3): 409.
  14. Gadde, U.D., S. Oh, H.S. Lillehoj and E.P. Lillehoj. 2018. Antibiotic growth promoter's virginiamycin and bacitracin methylene disalicylate alter the chicken intestinal metabolome. *Scientific Reports*, 8(1): 1-8.
  15. Gaggia, F., P. Mattarelli and B. Biavati. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International journal of food microbiology*, 141: S15-S28.
  16. Gunal, M., G. Yayli, O. Kaya, N. Karahan and O. Sulak. 2006. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *International Journal Poult. Science*, 5(2): 149-155.
  17. Hassan, H.M.A., M.A. Mohamed, A.W. Youssef and E.R. Hassan. 2010. Effect of using organic acids to substitute antibiotic growth promoters on performance and intestinal microflora of broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(10): 1348-1353.
  18. Hauschild, A.H.W., and R. Hilsheimer. 1974. Evaluation and modifications of media for enumeration of *Clostridium perfringens*. *Applied microbiology*, 27(1): 78-82.
  19. Janardhana, V., M.M. Broadway, M.P. Bruce, J.W. Lowenthal, M.S. Geier, R.J. Hughes and A.G. Bean. 2009. Prebiotics modulate immune responses in the gut-associated lymphoid tissue of chickens. *The Journal of Nutrition*, 139(7): 1404-1409.
  20. Khalique, A., D. Zeng, H. Wang, X. Qing, Y. Zhou, J. Xin and M. Shoaib. 2019. Transcriptome analysis revealed ameliorative effect of probiotic *Lactobacillus johnsonii* BS15 against subclinical necrotic enteritis induced hepatic inflammation in broilers. *Microbial Pathogenesis*, 132: 201-207.
  21. Kim, S.J., K.W. Lee, C.W. Kang and B.K. An. 2016. Growth performance, relative meat and organ weights, cecal microflora, and blood characteristics in broiler chickens fed diets containing different nutrient density with or without essential oils. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(4): 549.
  22. Kiu, R. and L.J. Hall. 2018. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerging Microbes & Infections*, 7(1): 1-15.
  23. Kumar, N.P., N.V. Kumar and A. Karthik. 2019. Molecular detection and characterization of *Clostridium perfringens* toxin genes causing necrotic enteritis in broiler chickens. *Tropical Animal Health and Production*, 51(6): 1559-1569.
  24. Lukic, J., V. Chen, I. Strahinic, J. Begovic, H. Lev-Tov, S.C. Davis and I. Pastar. 2017. Probiotics or pro-healers: the role of beneficial bacteria in tissue repair. *Wound Repair and Regeneration*, 25(6): 912-922.
  25. Maass, N., J. Bauer, B.R. Paulicks, B.M. Böhmer and D.A. Roth-Maier. 2005. Efficiency of *Echinacea purpurea* on performance and immune status in pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 89(7-8): 244-252.
  26. Mohammadi Gheisar, M. and I.H. Kim. 2018. Phytobiotics in poultry and swine nutrition—a review. *Italian Journal of Animal Science*, 17(1): 92-99.
  27. Mojangi, N., M.R. Sanjabi, M.H. Dalimi, N. Vaseii, E. Zareie Yousef Abad. 2020. Effect of probiotic and herbal extracts on performance, blood biochemistry and immune system of broiler chicks. *Research on Animal Production*, 11(28): 1-10 (In Persian).
  28. Moore, R.J. 2016. Necrotic enteritis predisposing factors in broiler chickens. *Avian Pathology*, 45(3), 275-281.
  29. M'Sadeq, S.A., S. Wu, R.A. Swick and M. Choct. 2015. Towards the control of necrotic enteritis in broiler chickens with in-feed antibiotics phasing-out worldwide. *Animal Nutrition*, 1(1): 1-11.
  30. O'dea, E.E., G.M. Fasenko, G.E. Allison, D.R. Korver, G.W. Tannock and L.L. Guan. 2006. Investigating the effects of commercial probiotics on broiler chick quality and production efficiency. *Poultry Science*, 85(10): 1855-1863.
  31. Oviedo-Rondón, E.O., M.E. Hume, C. Hernández and S. Clemente-Hernández. 2006. Intestinal microbial ecology of broilers vaccinated and challenged with mixed *Eimeria* species, and supplemented with essential oil blends. *Poultry Science*, 85(5): 854-860.
  32. Partanen, K., T. Jalava, J. Valaja, S. Pertilä, H. Siljander-Rasi and H. Lindeberg. 2001. Effect of dietary carbadox or formic acid and fibre level on ileal and faecal nutrient digestibility and microbial



- metabolite concentrations in ileal digesta of the pig. *Animal Feed Science and Technology*, 93(3-4): 137-155.
33. Panda, A.K., S.V.R. Rao, M.V. Raju and S.R. Sharma. 2006. Dietary supplementation of *Lactobacillus sporogenes* on performance and serum biochemical-lipid profile of broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, 43(3): 235-240.
  34. Rodgers, N.J., R.A. Swick, M.S. Geier, R.J. Moore, M. Choct and S.B. Wu. 2015. A multifactorial analysis of the extent to which *Eimeria* and fishmeal predispose broiler chickens to necrotic enteritis. *Avian Diseases*, 59(1): 38-45.
  35. Shargh, M.S., B. Dastar, S. Zerehdaran, M. Khomeiri and A. Moradi. 2012. Effects of using plant extracts and a probiotic on performance, intestinal morphology, and microflora population in broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 21(2): 201-208.
  36. Si, W., J. Gong, Y. Han, H. Yu, J. Brennan, H. Zhou and S. Chen. 2007. Quantification of cell proliferation and alpha-toxin gene expression of *Clostridium perfringens* in the development of necrotic enteritis in broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(21): 7110-7113.
  37. Silva, T.M., E.L. Milbradt, J.C.R. Zame, C.R. Padovani, I.C.D.L.A. Paz, A. Hataka, A.S. Okamoto, L. Gross and R.L. Andreatti Filho. 2020. Effects of Organic Acid and Probiotics on Cecal Colonization and Immune Responses in Broiler Chickens Challenged with *Salmonella Enteritidis*. *Poultry Science*, 19: 29-36.
  38. Stanley, D., S.B. Wu, N. Rodgers, R.A. Swick and R.J. Moore. 2014. Differential responses of cecal microbiota to fishmeal, *Eimeria* and *Clostridium perfringens* in a necrotic enteritis challenge model in chickens. *PloS one*, 9(8): e104739.
  39. Taheri, H.R., H. Moravej, A. Malakzadegan, F. Tabandeh, M. Zaghari, M. Shivazad and M. Adibmoradi. 2010. Efficacy of *Pediococcus acidilactici*-based probiotic on intestinal Coliforms and villus height, serum cholesterol level and performance of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 9(44): 7564-7567.
  40. Yitbarek, A., H. Echeverry, P. Munyaka and J.C. Rodriguez-Lecompte. 2015. Innate immune response of pullets fed diets supplemented with prebiotics and synbiotics. *Poultry Science*, 94(8): 1802-1811.
  41. Yu, D.Y., X.F. Mao, Y. Qin and W.F. Li. 2010. Effects of *B. subtilis* on growth performance, antioxidant and immunity of broilers [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 3.
  42. Wang, H., X. Ni, X. Qing, L. Liu, J. Lai, A. Khalique and D. Zeng. 2017. Probiotic enhanced intestinal immunity in broilers against subclinical necrotic enteritis. *Frontiers in Immunology*, 8: 1592.
  43. Wang, W., J. Chen, H. Zhou, L. Wang, S. Ding, Y. Wang and A. Li. 2018. Effects of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* and fructooligosaccharide on growth performance, blood immune parameters, and intestinal morphology in weaned piglets. *Food and Agricultural Immunology*, 29(1): 84-94.
  44. Xu, Z.R., C.H. Hu, M.S. Xia, X.A. Zhan and M.Q. Wang. 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science*, 82(6): 1030-1036.
  45. Yeganeparast, M., A.R. Jafari Arvari and S.M. Hashemi. 2019. Effects of savory essential oil and flavomycin on performance and immune parameters in broiler chickens. *Research on Animal Production (Scientific and Research)*, 10(23): 1-10 (In Persian).
  46. Zhang, Z.F. and I.H. Kim. 2014. Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers. *Poultry Science*, 93(2): 364-370.

## Comparison of the Effects of Antibiotic Alternative Feed Additives on Prevention of Subclinical Necrotic Enteritis in Broilers

Masoumeh Ghiamatiun<sup>1</sup>, Maziar Mohiti Asli<sup>2</sup> and Nariman Miralami<sup>3</sup>

1- Graduate M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, University of Guilan, Rasht, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, University of Guilan, Rasht, Iran, (Corresponding author: mmohiti@guilan.ac.ir)

3- Veterinarian, Azmoon Salamat Iranian Laboratory, Rasht, Iran

Received: 6 November, 2020 Accepted: 12 Jun, 2021

### Extended Abstract

**Introduction and Objective:** Antibiotics have been widely used in animal production for decades to promote growth. Although there is a trend toward reducing antibiotics in diets and now in Europe new laws have been passed to ban their use. As a result, economically important diseases such as enteritis necrosis (NE), which is caused by *Clostridium perfringens* in chickens, have become more prevalent. The alternatives to antibiotic growth promoters could affect gut health and performance by their impact on intestinal microflora. The purpose of this experiment was to compare the efficacy of some feed additives as alternatives to antibiotic for preventing of subclinical necrotic enteritis in broilers.

**Material and Methods:** The study was conducted using 336 one-day-old male broiler chicks in a completely randomized design with 7 treatments, 4 replicates and 12 chicks per replicate. The treatments included: 1) Negative control (NC, corn-soybean meal-based diet without any feed additive); 2) Positive control (PC, diet containing wheat and fish-meal without any feed additive); 3) Antibiotic (PC diet + zinc-bacitracin); 4) Probiotic (PC diet + probiotic); 5) Prebiotic (PC diet + prebiotic); 6) Phytobiotic (PC diet + phytobiotic); and 7) Organic acid (PC diet + organic acids).

**Results:** The results indicated that addition of antibiotic or its alternatives to the PC diet did not affect average daily feed intake, average daily gain, feed conversion ratio and relative weight of internal organs ( $p>0.05$ ). Evaluation of cecal bacterial population at d 41 showed that chickens were infected by subclinical necrotic enteritis. The count of *Clostridium perfringens* was significantly lower in broilers fed either phytobiotic or antibiotic than in broilers received either NC or PC treatments. Broilers fed probiotics, prebiotics or organic acid in their diet had lower counts of *Clostridium perfringens* in cecal contents than those fed PC diet ( $p<0.05$ ), however the difference was not significant when compared to NC treatment ( $p>0.05$ ).

**Conclusions:** According to the sampling results on days 29 and 41, addition of phytobiotic compared to antibiotic, increased the number of lactobacilli while reduced the count of *Clostridium perfringens* and coliforms. Therefore, phytobiotic can be a suitable alternative for antibiotic to promote gastrointestinal health and prevent subclinical necrotic enteritis in broilers.

**Keywords:** Necrotic enteritis, Organic acid, Phytogenic, Prebiotic, Probiotic