مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۴، دوره ۷۰، شماره ۳، ۲۹۹-۲۹۳
Original Article
Journal of Veterinary Research. 70,3: 293-299, 2015

تأثیر اسید آلی، پروبیوتیک و عصاره الکلی سرخارگل بر میکروفلور روده و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی

حسین ابراهیمی[1] شعبان رحیمی[1*] پژواک خاکی[2]
۱) گروه علوم طیور، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران-ایران
۲) بخش میکروبشناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج- ایران

(دریافت مقاله: ۱۸ فروردین ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۲۹ تیر ماه ۱۳۹۴)

چکیده

زمینه مطالعه: شیوع وگسترش بیماریهای باکتریایی موجب افزایش مصرف آنتی بیوتیک‌ها شده که متعاقباً افزایش مقاومت باکتریایی در برابر مصرف آنتی بیوتیک‌های مرسوم را به همراه داشته است. **هدف:** به منظور بررسی و مقایسه اثر اسید آلی Selko- pH، پروبیوتیک پریمالاک و عصاره الکلی سرخارگل بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار بر روی ۱۲۰ قطعه جوجه یک روزه نر سویه رأس (۳۰۸) در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. **روش کار:** تیمارهای مورد مطالعه شامل اسید آلی Selko- pH (که تا روز ۱۴، اسید آلی را به صورت مستمر و سپس ۸ ساعت در ۲۴ ساعت به میزان ۱ در هزار در آب آشامیدنی دریافت کردند)، پروبیوتیک (جوجه‌ها تا سن ۱۴ روزگی به صورت آشامیدنی و سپس به صورت مخلوط در خوراک دریافت نمودند)، عصاره الکلی سرخارگل (به میزان ۱ در هزار در آب آشامیدنی) و تیمار شاهد (بدون مواد افزودنی) بودند. **نتایج:** تمامی تیمارهای افزودنی سبب افزایش وزن نسبی بافت‌های لنفاوی طحال و بورس شدند که این افزایش فقط در تیمار سرخارگل اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p<0/001$). داده‌های حاصل از تست پادتن علیه گلبول‌های قرمز گوسفند و نسبت‌های هتروفیل به لنفوسیت نیز نشان داد که تمامی تیمارهای مورد مطالعه، بجز تیمار اسید آلی، تفاوت معنی‌داری از نظر پاسخ سیستم ایمنی اختصاصی و سلولی با تیمار شاهد داشتند ($p<0/001$). شمارش باکتری‌های دستگاه گوارش نیز حاکی از افزایش معنی‌دار میزان باکتری‌های لاکتوباسیلوسی مستقر در روده جوجه‌ها در تیمارهای اسید آلی و پروبیوتیک بود ($p<0/001$). **نتیجه‌گیری نهایی:** افزودنی‌های خوراکی استفاده شده در این آزمایش قابلیت بهبود سیستم ایمنی را دارا هستند.

واژه‌های کلیدی: اسید آلی، پروبیوتیک، سرخارگل، سیستم ایمنی، جوجه گوشتی

مقدمه

افزایش شیوع بیماریهای باکتریایی در دهه اخیر و همچنین افزایش مقاومت باکتریایی در برابر مصرف آنتی - بیوتیک‌های مرسوم، نیاز به استفاده از روشی که مکمل و یا حتی جایگزین آنتی بیوتیک‌ها باشند را ضروری تر جلوه می‌نماید. از مهم‌ترین ترکیب‌هایی که به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها معرفی شده‌اند، می‌توان به پروبیوتیک‌ها، اسیدهای آلی، آنزیم‌ها، گیاهان دارویی و عصاره آنها اشاره کرد. تأثیرات مفید این مواد بر روی سلامتی و سیستم ایمنی طیور در تحقیقات زیادی به اثبات رسیده است (۴،۱۷). پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های مفید و زنده‌ای هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی دستگاه گوارش حیوانات اثرات مفیدی بر سلامت و رشد دام و طیور دارند (۱۹). به عنوان مثال، تعداد زیادی از لاکتوباسیل‌ها می‌توانند از طریق تولید آب اکسیژنه باعث کاهش رشد پاتوژن‌هایی مثل سالمونلا (*Salmonella*) شوند. همچنین پروبیوتیک‌ها می‌توانند با استقرار در دستگاه گوارش با پاتوژن‌ها رقابت نموده و با اشغال گیرنده‌های سلول‌های مخاط دستگاه گوارش، از استقرار باکتری‌های مضر در این دستگاه جلوگیری نمایند (۲۴). پروبیوتیک‌ها عملکرد سیستم ایمنی را در روده و سطح عمومی‌بدن افزایش می‌دهند. باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک به عنوان یک پروبیوتیک می‌توانند از طریق افزایش لمفوسیت‌های B باعث افزایش پاسخ ایمنی بدن گردند (۷). از طرفی، گزارش شده است که پروبیوتیک‌ها از طریق افزایش فعالیت فاگوسیتوزی گلبول‌های سفید، افزایش تعداد لمفوسیت‌ها در سلول‌های دیواره روده، افزایش ترشح گاما انترفرون و در نتیجه افزایش تولید پادتن‌ها می‌توانند سیستم ایمنی پرنده را تحریک نمایند(۱۰).

علاوه بر پروبیوتیک‌ها، اسیدهای آلی نیز نقش بسزایی در کنترل بیماریهای دستگاه گوارش دارند. بیش از ۲۵ سال است که از اسیدهای آلی به طور گسترده در پرورش خوک و به تازگی در صنعت طیور استفاده می‌شود. دلیل اصلی استفاده از اسیدهای آلی در تغذیه طیور، جایگزینی آنها با آنتی بیوتیک‌های محرک رشد است. اسیدهای آلی با گروه فعال COOH که به یک گروه آلی و یا اتم هیدروژن متصل است، از دیگر اسیدها متمایز می‌شوند (۱). مهم‌ترین عامل برای رسیدن به حداکثر توان تولیدی در حیوانات تک معده ای، شرایط دستگاه گوارش از نظر رشد و تعدیل جمعیت میکروبی آن می‌باشد. درصد بالایی از رشد اولیه (۲ تا ۵ برابر رشد سایر اندام‌ها) در دستگاه گوارش و اندام‌های ضمیمه آن در هفته اول اتفاق می‌افتد. اگر رشد دستگاه گوارش در این زمان به تأخیر بیافتد بر رشد کلی بدن اثر می‌گذارد. بیماریها، انواع سموم، استرس‌ها، کمبودهای تغذیه ای، به هم خوردن تعادل میکروبی فلور طبیعی روده و کاهش مصرف

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۴۸۲۹۲۰۰۴ نمابر: ۰۲۱-۴۸۲۹۲۰۰۴ Email: Rahimi_s@modares.ac.ir

خـوراک از مهم‌ترین عواملی هسـتند که می‌توانند سـبب به خطر افتادن و یا از بین رفتن سـلامت دستگاه گوارش شـوند (۱۱). به دلایل متعددی اسـیدهای آلی در روده‌ها مورد استفاده مستقیم سلول‌های دیواره روده قرار گرفته و موجب رشد و ترمیم آنها می‌شوند. همچنین اسیدهای آلی به دلیل کاهش pH، سبب از بین رفتن عوامل بیماریزای موجود در دستگاه گوارش می‌گردند(۲۰). لذا افزودن این ترکیبات به جیره طیور در سنین اولیه رشد و استمرار آن می‌تواند مزایای زیادی را به همراه داشته باشد.

گیاهان دارویی دارای ترکیبات مختلفی می‌باشند. این ترکیبات درمانی بیشـتر شامل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی و ترکیبات فعال آنها بوده که توسط مصرف کننده، به عنوان ترکیبات طبیعی و بی خطر شناخته می‌شوند (۱۴). در طی سـال‌ها گیاهان دارویی جایگاه ویژه ایی در درمان بیماریهای انسانی و حیوانات و پرندگان پیدا کرده‌اند (۱۴،۲۲). به علاوه اینکه مصرف عصـاره این گیاهان به عنوان آنتی میکروب‌های طبیعی به طور گسـترده افزایش یافته اسـت. این عصاره‌ها در کنترل برخی میکروارگانیسـم‌های مضـر از قبیل کلسـتریدیوم پرفرنژنس (عامل نکروتیـک انترایتیس) در جوجه‌های گوشـتی مؤثر هسـتند(۱۲). گیاهان دارویی منابع بالقوه عوامل ضدباکتریایی جدید حتی در مقابل بعضی از سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک هستند. عصاره‌های گیاهی در مقابل هر دو دسته از پاتوژن‌های گرم مثبت و منفـی فعالیـت ضد میکروبی دارند (۲). از جملـه گیاهان مفید و مؤثر در بهبود سیستم ایمنی سرخارگل می‌باشد که به عنوان گیاه دارویی پر مصرف شناخته شده اسـت. این گیاه، بومی‌امریکای جنوبی بوده و خوشبختانه در ایران نیز به وفور کشـت می‌شـود. به رغم آن که ۹ گونه متفاوت از جنس Echinacea شناخته شده که در رویش گیاهان طبیعی (به طور وحشی و خودرو) رشـد می‌کنند، فقط سه گونه از آنها سابقه مصرف و آزمایش‌های بالینی دارند. این سـه گونه که در فروشگاه‌های غذای سالم و عطاری‌ها به فروش می‌رسند عبارتند از: *Echinacea angustifolia* (سرخارگل برگ باریک)، *Echinacea purpurea* (سـرخارگل ارغوانی) و*Echinacea pallida* (سرخارگل رنگ پریده).

در این مطالعه نظر به اهمیت و نقش پروبیوتیک‌ها، اسـیدهای آلی و اسانس‌های گیاهان دارویی در کنترل بیماریهای دستگاه گوارش پرندگان و بهبود سـلامتی آنها، اثر اسید آلی Selko- pH، پروبیوتیک پریمالاک و عصاره الکلی سـرخارگل بر میکروفلور روده و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

این آزمایش در مزرعه پژوهشـی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. بدین منظور، تعداد ۱۲۰ قطعه جوجه نر سویه رأس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار که هر کدام شـامل ۳ تکرار و هر تکرار شـامل ۱۰ قطعه جوجه بود مورد مطالعه قرار گرفتند. تیمارها عبارت بودند از: ۱) جوجه‌هایی که اسید آلی Selko- pH را در ۱۴ روز ابتدایی به صورت مسـتمر و پس از آن تا زمان کشـتار به صورت ۸ ساعت متوالی در شبانه روز دریافت کردند. ۲) جوجه‌های دریافت کننده پروبیوتیک پریمالاک (Star Labs,Inc. Clarkcdale, MO, USA) بـه صـورت ۱۲۰g پریمالاک محلول در ۱۰۰۰L آب در ۱۴ روز اول و در ادامه ۴۴۵g و ۲۲۵g در تن پریمالاک مخلوط در دان به ترتیب در جیره رشـد و جیره پایانی. ۳) جوجه‌های مصرف کننده عصاره الکلی سرخارگل (شرکت زردبند، تهران، ایران) که این عصاره را در ۱۴ روز اول به طور مستمر و پس از آن تا زمان کشتار به صورت ۸ ساعت متوالی در شبانه روز دریافت کردند. ۴) جوجه‌های گروه شـاهد که هیچ‌گونه افزودنی دریافت نکردند. به منظور ایجاد شرایط یکسان، جوجه‌ها در تمام تیمارها به آب و غذا که به صورت تجاری بر پایه ذرت و سویا بوده، دسترسی آزاد داشتند.

برنامـه واکسیناسـیون: برنامه واکسیناسـیون براسـاس توصیه اداره دامپزشـکی تهران طبق جدول (۱) اجرا شـد. جهت جلوگیری از استرس ناشی از واکسیناسیون، ۲۴ ساعت قبل از واکسیناسیون، مولتی ویتامین و بعد از واکسیناسیون، مولتی اسیدآمینه یک در هزار به جوجه‌ها خورانده شد.

ایمن نمودن جوجه‌ها علیه گلبول قرمز گوسفند: به منظور ایمن سازی پرندگان علیه گلبول‌های قرمز گوسـفند، تمامی‌جوجه‌ها در روزهای ۲۴ و ۳۱، مقـدار ۰/۱mL از سوسپانسـیون ۵٪ گلبول‌های قرمز گوسـفند را به صورت تزریق در عضله سینه دریافت کردند. نمونه‌های خون در روز ۳۸ از طریق بال و با سرنگ‌های حاوی EDTA جمع آوری شدند. داده‌های عیار پادتن علیه گلبول‌های قرمز گوسفند به روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر جمع آوری شـدند و لگاریتم بر مبنای ۲ عکـس آخرین رقتی که واکنش هماگلوتیناسیون در آن انجام شده بود، به عنوان تیتر پادتن برای SRBC ثبت گردید(۲۶).

نسبت هتروفیل به لنفوسیت: برای بررسی تغییرات نسبت هتروفیل به لنفوسـیت، یک گسـتره از خـون پرنـدگان تهیه و بـه روش May-Grunwald-Giemsa رنگ‌آمیـزی شـد و نسـبت هتروفیل‌هـا بـه لنفوسیت‌ها در ۱۰۰ عدد گلبول سفید با شمارش محاسبه شدند (۱۲).

نمونـه بـرداری از اندام‌های لنفاوی بـدن: نمونه‌های طحال و بورس فابریسیوس در روزهای ۲۸ و ۴۲، پس از کشتار جمع آوری و با دقت ۲-۱۰ وزن کشی شدند. داده‌های بدست آمده بر وزن بدن تقسیم و در ۱۰۰ ضرب شد تا مقادیر نسبی این اندام‌ها بدست آید.

شمارش باکتری محتویات روده کور پرندگان: به منظور بررسی تأثیر تیمارهای مورد مطالعه بر میکروفلور دسـتگاه گوارشـی طیـور (روده)، در روزهای ۲۸ و ۴۲ پس از کشتار، نمونه مدفوع از روده کور تهیه و بعد از رقت سازی تا 10^{-7} یک میلی لیتر از آخرین رقت تهیه شده روی محیط کشت اختصاصی لاکتوباسیلوس (Rogosa Agar, Oxiod, England) جهت شـمارش لاکتوباسیلوس‌ها کشت داده شـد. ضمناً به منظور شمارش کل

باکتری‌های دستگاه گوارش (Total Count)، یک میلی لیتر از آخرین رقت تهیه شده در محیط کشت غنی شده (Trypticase soy agar Oxiod, England) به روش پورپلیت (Pour Plate) کشت داده شد.

بررسی آماری: تجزیه داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم افزاری آماری SPSS صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها توسط همین نرم افزار و با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج

پاسخ سیستم ایمنی: داده‌های بدست آمده از عیارسنجی پادتن علیه گلبول‌های قرمز گوسفند در نمودار ۱ نشان داده شده است. تیتر پادتن علیه گلبول‌های قرمز گوسفند در تیمارهای پروبیوتیک و سرخارگل افزایش معنی‌داری (در مقایسه با تیمار شاهد) را نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). تیمار اسید آلی با وجود افزایش میزان تیتر پادتن، اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نشان نداد.

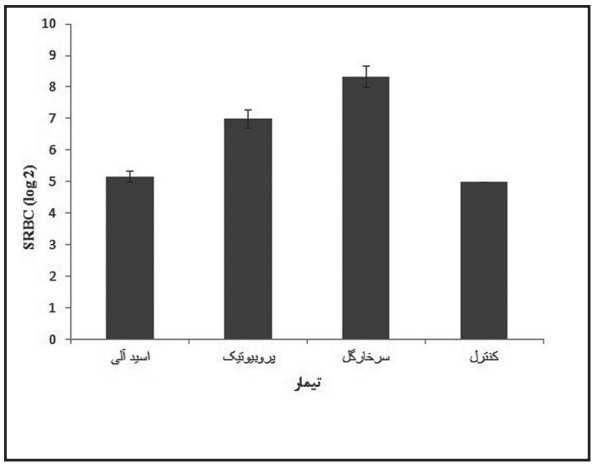
نسبت هتروفیل به لمفوسیت: بررسی داده‌های حاصل از شمارش گلبول‌های سفید به صورت نسبت هتروفیل به لمفوسیت نشان داد که تیمارهای مورد مطالعه سبب افزایش چشمگیر تعداد لمفوسیت‌های سیستم خونی جوجه‌ها شدند. به طوری که مقدار نسبت هتروفیل به لمفوسیت در تیمارهای سرخارگل و پروبیوتیک کاهش معنی‌داری داشت. هر چند این نسبت در تیمار اسید آلی نیز کاهش نشان داد، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود) در مقایسه با تیمار شاهد) (نمودار ۲).

وزن نسبی اندام‌های لمفاوی بدن: بررسی نتایج حاصل از وزن نسبی طحال و بورس فابریسیوس در تیمارهای مورد مطالعه نشان داد که تنها افزایش معنی‌داری (در مقایسه با تیمار شاهد) در وزن نسبی بورس و طحال جوجه‌های گوشتی در تیمار عصاره الکلی سرخارگل مشاهده گردید ($p<۰/۰۰۱$) و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. همچنین اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد مطالعه از نظر وزن قلب وجود نداشت (نمودارهای۳،۴).

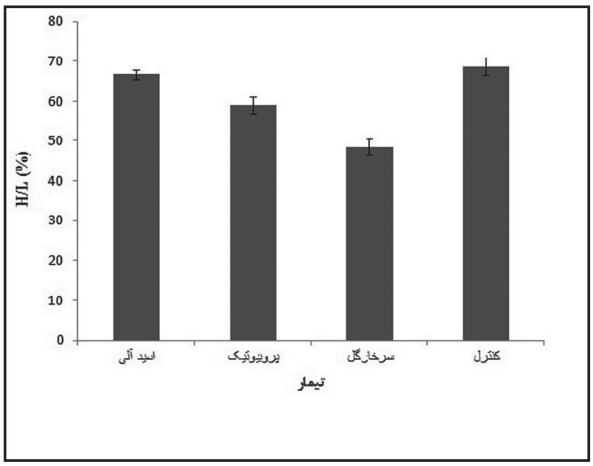
شمارش باکتری محتویات روده کور پرندگان: نتایج حاصل از شمارش کل باکتری‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها در نمودارهای ۵ و ۶ نمایش داده شده است. تیمارهای اسید آلی و پروبیوتیک سبب افزایش معنی‌دار (در مقایسه با تیمار شاهد) تعداد لاکتوباسیلوس‌های مستقر در سکوم پرنده‌ها شدند ($p<۰/۰۰۱$). در مقابل، کاهش معنی‌داری (در مقایسه با تیمار شاهد) در تعداد لاکتوباسیلوس‌های مستقر در سکوم پرنده‌ها تحت تیمار عصاره الکلی سرخارگل مشاهده گردید ($p<۰/۰۰۱$).

بحث

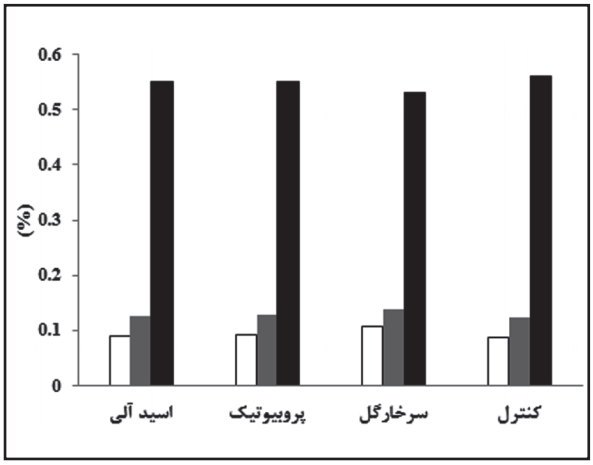
مطالعات متعدد صورت گرفته، حاکی از اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها بر تحریک سیستم ایمنی طیور می‌باشند. در این رابطه دو مکانیسم پیشنهاد



نمودار۱. تیتر آنتی بادی تولید شده بر علیه گلبول‌های قرمز گوسفند (انجام شده به منظور بررسی سیستم ایمنی).

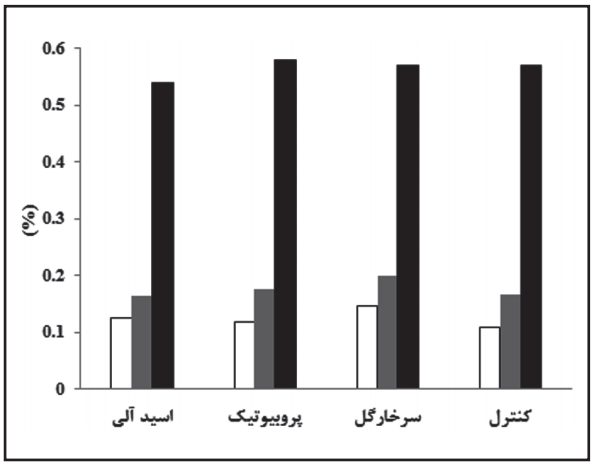


نمودار ۲. داده‌های بدست آمده از شمارش گلبول‌های سفید به شکل نسبت هتروفیل به لنفوسیت(انجام شده به منظور بررسی سیستم ایمنی).

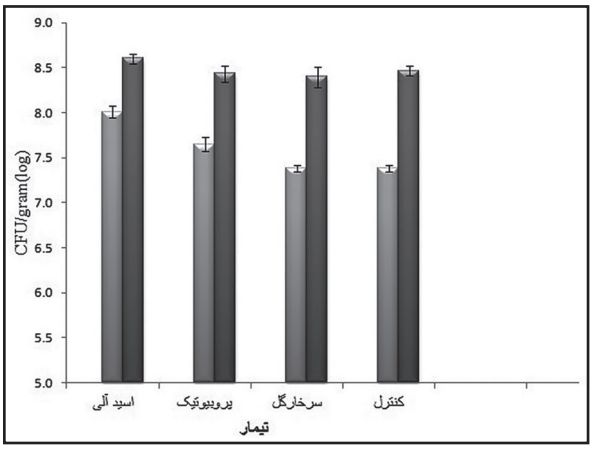


نمودار۳. مقادیر نسبی اوزان طحال و بورس در تیمارهای اعمالی (در ۲۸ روزگی).
طحال ☐ بورس ■ قلب ■

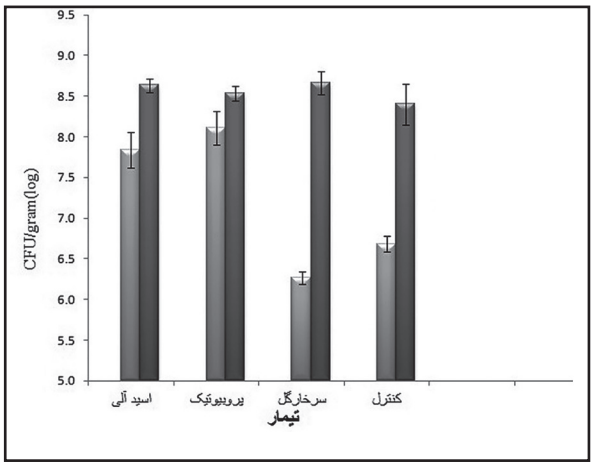
شده است؛ ابتدا آنکه باکتری‌های پروبیوتیک با اتصال به دیواره روده، فضای مؤثر برای اتصال باکتری‌های غیرمفید را محدود می‌کنند. به علاوه، گزارش شده است که باکتری‌های موجود در پروبیوتیک‌ها به هر دو صورت



نمودار۴. مقادیر نسبی اوزان طحال و بورس در تیمارهای اعمالی (در ۴۲ روزگی).
طحال ☐ بورس ■ قلب ■



نمودار۵. نتایج شمارش لاکتوباسیلوس‌ها و کل باکتری‌های سکوم پرندگان مورد آزمایش در روز ۲۸.
Lactobacillus ■ Total ■



نمودار۶. نتایج شمارش لاکتوباسیلوس‌ها و کل باکتری‌های سکوم پرندگان مورد آزمایش در روز ۴۲.
Lactobacillus ■ Total ■

زنده و کشته موجب تحریک سیستم ایمنی می‌شوند (۳). نشان داده شده است که، تحریک سیستم ایمنی توسط پروبیوتیک‌ها به احتمال زیاد از طریق افزایش فعالیت لمفوسیت‌های T، افزایش فعالیت سلول‌های بیگانه خوار و افزایش سطح پروتئین سرم باشد (۹).

در این آزمایش نیز پروبیوتیک به صورت مؤثری باعث افزایش میزان پادتن‌های ساخته شده علیه گلبول‌های قرمز گوسفند شد. پروبیوتیک‌ها پاسخ عمومی پادتن به پادگن را در جوجه‌ها تنظیم می‌کنند. Shoeib و همکاران در سال ۱۹۹۷ طی مطالعات خود بر روی جوجه‌های گوشتی، افزایش اریتروسیت‌ها و لوکوسیت‌ها و نیز افزایش قابل توجه درصد لمفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها را تحت تیمار مکمل سازی پروبیوتیک پرونیفر به جیره مشاهده کردند. Worruel و همکاران در سال ۲۰۰۲ گزارش کردند که باکتری‌های پروبیوتیکی قادرند بیان ژن‌های TNF (فاکتور نکروزه کننده تومور) در اپتلیوم روده را به تعویق انداخته و در نتیجه باعث کاهش به کارگیری فاگوسیت‌های تک هسته‌ای و سیتوکین‌های ترشح شده به وسیلهٔ این سلول‌ها گردند (۲۷). تحریک سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی انسان با لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus Rhamnosus*) سویه GG در شرایط آزمایشگاهی سبب تولید IL-۴، IL-۶ و IL-۱۰، فاکتور نکروز تومور آلفا و فاکتور اینترفرون گاما شد (۱۸). نتیجه ترشح IL-۴ و IL-۱۰، توسعه سلول‌های B و افزایش ایمونوگلوبولین‌ها است.

تأثیر اسیدهای آلی بر سیستم ایمنی هنوز به میزان زیادی ناشناخته باقی مانده است، اما به طور کلی می‌توان گفت که اسیدهای آلی با بهبود هضم و جذب مواد غذایی و همچنین با کاهش باکتری‌های مضر که موجب کاهش عفونت‌های تحت بالینی در طیور می‌شوند، می‌توانند در راستای کمک به سیستم ایمنی عمل کنند (۲۰). اسیدهای آلی می‌توانند از غشاء سلولی باکتری‌ها عبور نمایند و در داخل سلول اسید تجزیه شده و با تولید یون H+ موجب کاهش pH سلول می‌شود. همچنین آنیون‌های به وجود آمده موجب اختلال در سنتز DNA و در نتیجه تحت تأثیر قرار گرفتن ساخت پروتئین سلولی می‌شود. و در این حالت سلول مجبور است با صرف انرژی سعی در تنظیم pH داخلی بنماید، و به علت بی هوازی بودن محیط، روند کاهش pH تشدید شده و در نهایت به مرگ باکتری منجر می‌شود.

از این رو در این آزمایش تأثیر اسید آلی سلکو پی اچ بر سیستم ایمنی و جمعیت میکروبی روده ی جوجه‌های گوشتی مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج بدست آمده نشان دادند که اسید آلی تأثیر معنا داری بر سیستم ایمنی جوجه‌های مورد مطالعه نداشت. نتایج این آزمایش با نتایج آزمایش‌های مشابه مطابقت نداشت. بر اساس مطالعات Rowghani و همکاران در سال ۲۰۰۷ افزودن ۰/۱٪ فورماسین به جیرهٔ جوجه‌های گوشتی سبب افزایش تیتر پادتن علیه نیوکاسل گردید، در حالی که تیتر پادتن علیه واکسن‌های آنفولانزا و گامبورو کاهش یافت. پیشنهاد شده است که این افزایش احتمالاً به سبب تحریک سیستم ایمنی باشد (۱۶). در مطالعات Rahimi و همکاران در سال ۲۰۱۲ نیز اسید آلی فورماسین باعث بهبود سیستم ایمنی طیور و افزایش میزان IgG سرم خون جوجه‌های مورد آزمایش شد (۱۵). این اثر مثبت اسید آلی را می‌توان به خاصیت پری

بیوتیکی آن نسبت داد که با کاهش pH روده در اثرفعالیت اسیدهای آلی رخ داده و سبب افزایش باکتری‌های سودمند (از قبیل باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک) در محیط‌های اسیدی و تولید ترکیباتی از قبیل ویتامین‌ها و یا هضم اجزای خوراک می‌گردد (۵).

این باور وجود دارد که سرخارگل خاصیت تنظیم کننده‌ی سیستم ایمنی را دارد (۲۳). سرخارگل با افزایش تولید پادتن‌های IgM و IgG ایمنی هومورال را تقویت می‌کند. به علاوه سرخارگل تکثیر لمفوسیت‌های T را افزایش داده و در نتیجه ایمنی سلولی را نیز افزایش می‌دهد (۶،۱۲). در آزمایش اخیر نیز استفاده از سرخارگل باعث افزایش معنی‌دار تیتر پادتن علیه گلبول‌های قرمز گوسفند شد و نسبت هتروفیل به لمفوسیت را نیز به شکل معنی‌داری کاهش داد. در مطالعات مشابه صورت گرفته در مرغ‌های تخم گذار مشخص گردیده است که استفاده از سرخارگل در دوره‌های مکرر و کوتاه مدت، اثر مثبتی بر سلامتی و ایمنی پرنده‌ها داشته است (۲۵). سرخارگل دارای ترکیباتی از قبیل مشتقات اسید کافئیک، آلکامیدها، فلاونوئیدها، اسانس‌ها و پلی استیلن‌ها می‌باشد. خواص فارماکولوژیکی هر یک از این مواد به طور کامل مشخص نشده است (۲۳). با این حال خاصیت تعدیل کننده‌ی سیستم ایمنی توسط مشتقات اسید کافئیک و الکالامیدها ثابت شده است (۱۲). نتایج حاصله افزایش معنی‌دار اوزان نسبی بافت‌های لنفاوی را در طیور مورد آزمایش نشان داد. این تأثیر مثبت عصاره سرخارگل در افزایش اندازه نسبی اندام‌های لنفاوی (طحال و بورس) را می‌توان به خاصیت تحریک کننده و ضد اکسیدانی آن نسبت داد (۶). اندام‌های لنفاوی بسیار فعال بوده و در طی سوخت و ساز هوازی و همچنین عملکرد اختصاصی برخی از این سلول‌های آنها مانند فاگوسیتوز، ترکیبات فعال اکسیدان بوجود می‌آید. سلول‌های ایمنی به آسیب‌های اکسیداتیو بسیار حساسند. این آسیب‌ها می‌تواند در رابطه با اسیدهای چرب غیر اشباع غشای سلول‌های ایمنی و یا DNA سلول‌های ایمنی و بافت‌های سازنده آنها باشد (۲۵). سرخارگل به جهت داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی می‌تواند بافت‌ها و سلول‌های لنفاوی را از این آسیب‌ها حفظ کند و موجب بهبود کارکرد سیستم ایمنی بشود. Schranner و همکاران در سال ۱۹۸۹ اثر یک داروی حاوی سرخارگل را بر سیستم ایمنی هومورال در جوجه سالم و جوجه دارای نقص ایمنی بررسی کردند. داروی مورد نظر پارامترهای ایمنی را در هر دو گروه جوجه بهبود بخشید.

تأثیر به سزای عصاره الکلی سرخارگل در ارتقای عملکرد سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در مقایسه با دیگر افزودنی‌های خوراکی رایج زمینه مطالعات گسترده ای را فراهم می‌کند که می‌تواند در آینده صورت گیرد. همچنین در این آزمایش نشان داده شد که پروبیوتیک‌ها قابلیت تحریک سیستم ایمنی را دارند و عملکرد سیستم ایمنی را در روده و سطح سیستمیک بدن را افزایش می‌دهد از این رو علاوه بر تأثیر مثبت پروبیوتیک‌ها در تغییر سودمند میکروفلور روده خاصیت تحریک کننده گی سیستم ایمنی آنها نیز باید مد نظر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کارکنان بخش میکروبشناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی و همچنین کارشناسان مرکز تحقیقات طیور دانشگاه تربیت مدرس بابت زحمات بی دریغشان تشکر و قدردانی می‌نمایم.

References

1. Ahmad, I. (2006) Effect of probiotics on broilers performance. Int J Poult Sci. 5: 593-597.
2. Badis, G., Chan, E.T., van Bakel, H., Pena-Castillo, L., Tillo, D., Tsui, K., Hughes, T.R. (2008) A library of yeast transcription factor motifs reveals a widespread function for Rsc3 in targeting nucleosome exclusion at promoters. Mol Cell. 32: 878-887.
3. Böhmer, Barbara M., Salisch, H., Brigitte, R., Paulicks, F.X. (2009) Echinacea purpurea as a potential immunostimulatory feed additive in laying hens and fattening pigs by intermittent application. Livest Sci. 122: 81–85.
4. Bassett, R. (2000) Oregano's positive impact on poultry production. World Poult Sci. 16: 31-34.
5. Biggs, P., Parsons, C.M. (2008) The Effects of several organic acids on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. Poult Sci. 87: 2581–2589.
6. Bohmer, B.M., Salisch, H., Paulicks, B.R., Roth, F.X (2009) Echinacea purpurea as a potentional immunostimulatory feed additive in laying hens and fattening pigs by intermittent application. Livest Sci. 122: 81-85.
7. De Simone, C., Vesely, R., Bianchi Salvadori, B. (1993) The Role of probiotics in modulation of the immune system in man and animals. Int J Immunother. IX: 23-28.
8. Fuller, R. (1989) A review: Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol. 66: 365-378.
9. Gross, W.B., Siegel, P.B. (1983) Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as measure of stress in chickens. Avian Dis. 27: 972-979.

10. Haghighi, H.R., Gong, J., Gyles, C.L., Hayes, M.A., Sanei, B., Parvizi, P., Gisavi, H., Chambers, J.R., Sharif, S. (2005) Modulation of antibody-mediated immune response by probiotic in chickens. Clinical and diagnostic laboratory performance and nutrient availability in broiler. Kor J Anim Sci. 36: 630-638.
11. Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N., Sulak, O. (2005) The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. Int J Poult Sci. 5: 149-155.
12. Matthias, A., Banbury, L.M., Bone, K.N., Leach, D.P., Lehmann, R. (2008) Echinacea alkylamides modulate induced immune responses in T-cells. Fitoterapia. 79: 53–58.
13. Panda, A.K., Reddy, M.R., Rama Rao, S.V., Raju, M.V.L.N., Paraharaj, N.K. (2000) Growth, carcass characteristics, immunocomponence and response to Escherchia coli of broiler fed diets with various level of probiotic. Archive Geflu gelkunde. 64: 152-156.
14. Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D., Moorman, M.A., Simonetti, D.W., Craig, S., Marshak, D.R. (1999) Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 284: 143-147.
15. Rahimi, S., Yakhkeshi, S., Shawrang, P. (2012) Effects of electron beam irradiation and organic acid on production performance and immune responses in broiler chickens. J Vet Res (University of Tehran). 67: 223-233.
16. Rowghani, E., Arab, M., Akbarian, A. (2007) Effects of a probiotic and other feed additives on performance and immune response of broiler chicks. Int J Poult Sci. 6: 261-265.
17. Sakata, T., Kojima, T., Fujieda, M., Miyakozawa, M., Takahashi, M., Ushida, K. (1999) Probiotic preparation dose-dependently increase net production rates of organic acids and decrease that of ammonia by pig caecal bacteria in batch culture. Digest Dis Sci. 44: 1485-1493.
18. Schultz, C.E., Eugene, E.M., Ammar, A.A. (2003) Shielded optical probe and method. U.S. Patent. 6: 580, 860.
19. Shoeib, H.K., Sayed, A.N., Sotohy, S.A., Abdel Ghaffar, S.K. (1997) Response of broiler chicks to probiotic (Pronifer) supplementation. J Vet Med. 36: 103- 116.
20. Skrivanova, E., Marounek, M. (2007) Influence of pH on antimicrobial activity of organic acids against rabbit enteropathogenic strain of Escherichia coli. Florida Microbiol. 52: 70–72.
21. Schranner, I., Wurdinger, M., Klumpp, N., Lösch, U., Okpanyi, S.N. (1989) Beeinflussung der aviären humoralen immunreaktionen durch infuex und *Echinacea angustifolia* extract. J Vet Med B. 36: 353-364.
22. Stuessy, T.F. (1977) In the biology and chemistry of the composite supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. Br Poult Sci. 37: 395-401.
23. Thygesen, L., Thulin, J., Mortensen, A., Skibsted, L.H., Molgaard, P. (2007) Antioxidant activity of cichoric acid and alkamides from *Echinacea purpurea*, alone and in combination. Food Chem. 101: 74-81.
24. Tortuero, F. (1973) Influence of the implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. Poult Sci. 52: 197-203.
25. Tzu, T.L., Chung, L.Ch., Zhao, H.Sh., Jun, Ch. L., Bi, Y. (2009) Study on antioxidant activity of *Echinacea purpurea* L extracts and its impact on cell viability. Afr J Biotechnol. 8: 5097-5105.
26. Van der Zijpp, A.J., Leenstra, F.R. (1980) Genetic analysis of the humoral immune response of White Leghorn chicks. Poult Sci. 59:136.
27. Worruel, N., Carol, M., Casellas, F., Antolin, M., de Lara, F., Espin, E., Naval, J., Guarner, F., Malagelada, J.R. (2002) Increased mucosal tumor necrosis factor alpha production in Crohn's disease can be down regulated ex-vivo by probiotic bacteria. Gut. 51: 659-664.

The effect of organic acid, probiotic and *Echinacea purpurea* usage on gastrointestinal microflora and immune system of broiler chickens

Ebrahimi, H.[1], Rahimi, Sh.[1*], Khaki, P.[2]

[1]*Department of Poultry Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran-Iran*
[2]*Department of Microbiology, Razi Vaccine and Serum Production Research Institute, Karaj-Iran*
(Received 7 April 2015, Accepted 20 July 2015)

Abstract:

BACKGROUND: Outbreak and spread of bacterial infections resulted in increasing use of antibiotics which subsequently leaded to bacterial resistance to conventional antibiotics. **OBJECTIVES:** To evaluate the effects of organic acids (Selko-pH®), Probiotic (PrimaLac®) and Echinacea purpurea (EP) alcoholic extract on the immune system of the broiler chickens, a completely randomized design experiment was conducted over 120 one-day-old male broiler chicks (Ross 308) with 4 treatment groups that each treatment consisted of 3 replications with 10 birds in each pen. Methods: Groups were designed as follow: group one received organic acid constantly in drinking water (1:1000 v/v) until 14th day and then received 8 hours in a day consecutively (OA); group two received Probiotic (PrimaLac®) water soluble (by 14th day) and mix in the feed (until the end of the rearing period) (PM); group three received EP alcoholic extract in drinking water (1:1000 v/v) like organic acid group and group four were considered as control (received no feed additives). **RESULTS:** All groups except the control increased the relative weight of the spleen and Bursa of Fabricius as lymphoid tissues; however, this increase was statistically significant only in the case of EP group ($p \leq 0.001$). Data of antibodies test against sheep red blood cells and heterophil to lymphocyte ratio also showed that all groups except the treatment of organic acid had significant differences in terms of specific and cellular immune responses ($p < 0.01$). The data of total count of bacteria and also Lactobacilli bacteria in cecal's content obviously showed that the number of Lactobacilli bacteria significantly increased in PM and OA treatments ($p \leq 0.05$). **CONCLUSIONS:** Feed additives used in these experiments have the ability to improve the immune system.

Keyword: broilers, *Echinacea purpurea*, immune system, organic acid, probiotic

Figure Legends and Table Captions

Graph 1. Titers of antibody against sheep red blood cells (SRBC).

Graph 2. The data of enumeration of the white cells in shape of herterophil to lymphocyte ratios.

Graph 3. The relative weights of spleen, bursa of fabricius and heart on day 28.

Graph 4. The relative weight of spleen, bursa of fabricius and heart on day 42.

Graph 5. The data of enumeration of lactobacillus and total count in treated birds (on day 28).

Graph 6. The data of enumeration of lactobacillus and total count in treated birds (on day 42).

***Corresponding author's email: Rahimi_s@modares.ac.ir, Tel: 021-48292004, Fax: 021-48292004**