

## مقایسه اثر عصاره رزماری، آویشن، برهموم، آنتی بیوتیک و پروبیوتیک بر فراسنجه‌های خونی، میکروفلور دستگاه گوارش و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا انتریتیدیس

مسعود طاهر شعبان رحیمی\* محمدامیر کریمی ترشیزی عباس عاشوری سکینه بابایی

گروه علوم طیور، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران-ایران

(دریافت مقاله: ۱۵ اسفند ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۲ اردیبهشت ماه ۱۳۹۵)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** سالمونلا انتریتیدیس یکی از مهمترین عوامل ایجاد کننده بیماری در طیور است. برخی از ترکیبات گیاهی به دلیل داشتن اثر ضد باکتریایی و هم چنین ترکیباتی مانند برهموم و پروبیوتیک می‌توانند همانند آنتی بیوتیک‌ها در کنترل و یا پیشگیری از عفونت ناشی از سالمونلا مؤثر باشند. **هدف:** این مطالعه به منظور مقایسه اثر عصاره رزماری، آویشن، برهموم، آنتی بیوتیک و پروبیوتیک بر سیستم ایمنی، میکروفلور دستگاه گوارش و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا انتریتیدیس طراحی شده است. **روش کار:** تعداد ۴۲۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نر سویه کاب در هفت گروه شامل گروه‌های عصاره اتانولی رزماری، عصاره اتانولی برهموم، عصاره اتانولی آویشن، پروبیوتیک و ویرجینیا مایسین (۱۰٪) و دو گروه شاهد منفی و مثبت گروه بندی شده و به مدت ۶ هفته پرورش داده شدند. بعد از سپری شدن دوره پرورش جوجه‌ها خون گیری و ذبح شدند و اثر تیمارهای فوق بر آنها مورد آزمایش قرار گرفت. **نتایج:** نتایج نشان داد که عصاره‌های گیاهی و پروبیوتیک می‌توانند باعث بهبود سیستم ایمنی، کاهش لیپیدهای سرم خون، کاهش باکتری‌های مضر چون سالمونلا و اشریشیاکلی و نیز افزایش میکروارگانیزم‌های مفیدی نظیر باکتری‌های اسید لاکتیک در دستگاه گوارش پرند شوند. **نتیجه گیری نهایی:** این مطالعه نشان داد که عصاره‌های گیاهی و پروبیوتیک را می‌توان به عنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک‌ها در جیره جوجه‌های گوشتی بکار برد.

**واژه‌های کلیدی:** رزماری، آویشن، جوجه‌های گوشتی، سیستم ایمنی، سالمونلا انتریتیدیس

### مقدمه

مطالعه بر روی موش‌های آزمایشگاهی، افزودن عصاره رزماری به جیره به طور کلی منجر به افزایش عملکرد ایمنی نشد ولی تحت شرایط استرس (کمبود پروتئین یا آنتی اکسیدان) اثرات مثبتی مشاهده شد (۳). هدف از تحقیق حاضر مطالعه تأثیر مواد فوق الذکر بر سیستم ایمنی، میکروفلور دستگاه گوارش و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

### مواد و روش کار

این آزمایش به مدت ۶ هفته با استفاده از ۴۲۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نر سویه کاب انجام شد. کلیه داده‌های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ گروه آزمایشی و ۴ تکرار که در هر تکرار ۱۵ پرند وجود داشت به شرح مدل  $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$  آنالیز شدند. که در آن  $Y_{ij}$  برابر با مقدار هر مشاهده،  $\mu$  برابر با اثر میانگین جامعه،  $T_i$  برابر با اثر تیمار و  $E_{ij}$  برابر با مقدار باقیمانده می‌باشد. در ضمن جهت بررسی آماری اختلاف موجود بین گروه‌ها از نرم افزار SAS استفاده شد و اختلاف بین تیمارها، با استفاده از آزمون مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای جدید دانکن بررسی شد و کلیه مقادیر  $p < 0.05$  معنی دار تلقی شدند. گروه‌های آزمایشی به ترتیب شامل عصاره رزماری ۱۰۰۰ ppm، عصاره برهموم ۵۰۰ ppm، عصاره آویشن ۱۰۰۰ ppm، پروبیوتیک (پریمالاک) ۱۰۰۰ ppm و ویرجینیا مایسین (۱۰٪) به مقدار ۱۵۰ ppm و دو گروه شاهد منفی و مثبت

بیماری‌های رودهای، به سبب اثرات سوئی که بر عملکرد تولید، میزان تلفات و سلامت تولیدات طیور برای مصارف انسانی می‌گذارند، یکی از مهمترین نگرانی‌های صنعت مرغداری به شمار می‌روند. برای رفع این نگرانی‌ها، قریب به ۵۰ سال است که استفاده از آنتی بیوتیک‌های محرک رشد به واسطه اثرات مثبتی که بر روی تعادل جمعیت میکروبی روده و جلوگیری از فعالیت برخی باکتری‌های بیماری‌زای روده‌ای مانند سالمونلا، اشریشیاکلی و کلسترییدیوم پرفرانزس دارند، رواج یافته است (۳۰). ترکیبات متعددی مانند آنزیم‌ها، اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها و اسانس‌های گیاهی به منظور تسریع رشد و یا ارتقای سلامتی پرندگان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۲۹). تا کنون مقاومت به گیاهان دارویی گزارش نشده است. از دیگر مزایای این ترکیبات نسبت به محرک‌های رشد شیمیایی می‌توان به بهبود سیستم ایمنی خصوصاً در بیماری‌های تضعیف کننده سیستم ایمنی اشاره کرد. ترکیبات فنولی موجود در آویشن مانند تیمول (Thymol) و کارواکرول (Carvacrol) خاصیت شدید ضد باکتریایی و ضد قارچی داشته که سبب از بین رفتن تعادل در غشاء سلولی باکتری و قارچ شده و باعث مرگ آنها می‌شود. ترکیبات فنولی، آلدئیدها و تریپن‌های موجود در عصاره‌های گیاهی دارای اثرات ضدباکتریایی می‌باشند (۱۹). داده‌های کمی در مورد اثر افزودن عصاره رزماری در جیره بر ایمنی وجود دارد. در یک



ولی کروی که از محیط کشت KF حاوی تترازولیم کلراید و با رنگ پرگنه بنفش بدست آمده بودند به عنوان استرپتوکوک و باکتری‌های میله‌ای کوتاه گرم منفی و لاکتاز مثبتی که از محیط کشت Mac Conkey بدست آمده بودند و دو قسمت شیب و پاشنه لوله TSI را زرد رنگ کرده و تولید گاز نیز نموده ولی HYS ایجاد نکرده بودند به عنوان اشریشیاکلی و پرگنه‌های با مرکز سیاه رنگی که از محیط کشت XLD آگار بدست آمده بودند و قسمت پاشنه لوله TSI را زرد و قسمت شیب آن را قرمز کرده بودند و سولفور را نیز احیاء کرده بودند به عنوان سالمونلا تلقی شدند.

**سنجش عملکرد سیستم ایمنی:** در سن ۴۲ روزگی دو پرنده از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب شدند. برای تعیین پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتینین از روش کریبر و دلوج در سال ۱۹۹۰ استفاده شد (۷). به طور خلاصه، ضخامت میان انگشت سوم و چهارم پنجه پا با استفاده از کولیس اندازه گیری شد. سپس ۰/۱ml محلول فیتوهماگلوتینین داخل پوست تزریق گردید. بعد از ۲۴ ساعت محل تزریق دوباره اندازه‌گیری و با تعیین اختلاف ضخامت پوست، افزایش حساسیت بازوفیل‌های پوست مشخص شد. همچنین در سن ۴۲ روزگی یک پرنده از هر پن انتخاب و وزن نسبی بورس فابریسیوس، تیموس و طحال تعیین شد. تزریق ۰/۱ml گلبول قرمز گوسفند ۵٪ در بافر فسفات، در روز ۳۵ در عضله سینه انجام و ۷ روز بعد از آن یعنی در روز ۴۱ روزگی، از جوجه‌ها خون گیری شد و بعد نمونه‌های سرم برای تعیین عیار پادتن جدا شدند. برای تعیین عیار پادتن تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند از روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر استفاده گردید (۳۲). واکسن نیوکاسل (لاسوتا) در سن ۲۳ روزگی از طریق آب آشامیدنی به جوجه‌ها داده شد و در آخر دوره یعنی در روز ۴۱ روزگی خون‌گیری انجام شد. عیار پادتن علیه ویروس واکسن نیوکاسل با روش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) تعیین شد (۱۰). به منظور بررسی آماری اختلاف موجود بین گروه‌ها از نرم افزار SAS استفاده شد و اختلاف بین تیمارها، با استفاده از آزمون مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای جدید دانکن بررسی شد و کلیه مقادیر  $p < 0.05$  معنی‌دار تلقی شدند.

## نتایج

**اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی:** از نظر بررسی تأثیر فاکتورهای آزمایشی بر مقدار HDL سرم خون جوجه‌های گوشتی و با توجه به جدول ۱ بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) که در آن تیمارهای آویشن، رزماری و شاهد منفی اختلاف معنی‌داری را با دیگر گروه‌ها نشان دادند. در میان این تیمارها، تیمار آویشن دارای بالاترین میزان HDL و تیمار شاهد مثبت کمترین میزان HDL را نشان داد. از نظر میزان تری‌گلیسرید بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) که بر طبق آن تیمارهای بره‌موم و شاهد مثبت دارای اختلاف معنی‌داری با تیمارهای آویشن و رزماری بودند. این آزمایش‌ها در ارتباط با میزان کلسترول سرم

بودند. عصاره‌های اتانولی رزماری و آویشن بصورت تجاری از شرکت گل سرخ مشهد تهیه شدند. در این مطالعه از پروبیوتیک نوع پریمالاک (Star Labs, Inc. Clarkdale, MO, USA) استفاده گردید. در ضمن میزان مقدار استفاده از هر یک از عصاره‌ها و همچنین پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک بر اساس پیشنهاد کارخانه سازنده و با هدف درمان اعمال شد. برای تهیه عصاره بره‌موم، نمونه با اتانول ۹۸٪ مخلوط و توسط بن‌ماری، اولتراسوند هموزن شده و سوسپانسیون حاصل از آن توسط کاغذ صافی فیلتر شده و محلول صاف شده با استفاده از دستگاه تبخیرکننده گردان در حرارت کمتر از ۵۰°C تغلیظ شد (۱۴). مدیریت بهداشتی و پرورشی مطابق با استانداردهای معمول اعمال گردید. پرورش بر روی بستر انجام شد. در ضمن تلفات به صورت روزانه جمع‌آوری، توزین و کالبدگشایی شدند. راندمان‌های پرورشی هر ۷ تیمار شامل ضریب تبدیل، افزایش وزن و شاخص کارایی اروپایی اندازه‌گیری شد. در روز ۱۰ به همه گروه‌ها به جز گروه کنترل منفی ۱ml باکتری سالمونلا انتریتیدیس به میزان ( $1 \times 10^7$  mL/cfu) از طریق دهانی تلقیح شد.

**اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی:** نسبت هتروفیل به لنفوسیت، میزان پروتئین تام، میزان آلبومین سرم، درصد هماتوکریت، کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و HDL مورد بررسی قرار گرفتند. به این ترتیب که در روز ۴۱ پرورش جوجه‌های گوشتی، بعد از دو ساعت گرسنگی دادن به جوجه‌ها از سایه‌رگ بال نمونه‌های خون گرفته شده (دو پرنده از هر تکرار) و سرم برای تعیین غلظت کلسترول تام، تری‌گلیسرید، HDL، LDL، آلبومین و پروتئین تام با استفاده از کیت‌های شرکت زیست شیمی به کار برده شد.

**تعیین میکروفلور روده:** در سن ۴۲ روزگی یک پرنده از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و پس از ذبح، ۱g مواد دفعی از محل انتهای روده باریک و روده کور آنها برداشته شد. تعداد واحد تشکیل دهنده پرگنه در هر گرم از محتویات روده یک گرم مدفوع تازه به بافر PBS اضافه و تهیه رقت شد. شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک در محیط کشت MRS آگار، شمارش باکتری‌های سالمونلا در محیط کشت XLD، شمارش استرپتوکوک‌ها در محیط کشت KF، شمارش کل باکتری‌های هوازی در محیط کشت Plate count و شمارش اشریشیاکلی در محیط کشت آگار مک کانکی بعد از گرم‌خانه‌گذاری هوازی در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. به منظور تأیید مقدماتی باکتری‌های رشد یافته در هر محیط کشت آزمون‌های تکمیلی زیر روی پرگنه‌های منتخب از هر پلیت انجام شد. پرگن‌های رشد یافته روی محیط کشت MRS و KF آگار-رنگ آمیزی گرم و آزمون کاتالاز-پرگنه‌های رشد یافته روی محیط کشت XLD و Mac Conkey آگار-رنگ آمیزی گرم و آزمون کشت روی اسلنت TSI، باکتری‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی و میله‌ای، بیضوی یا کروی شکل که از محیط MRS بدست آمده بودند به عنوان باکتری‌های اسید لاکتیک، باکتری‌های مشابه



جدول ۱. تأثیر عصاره‌های گیاهی، پروبیوتیک، آنتی‌بیوتیک و برهموم بر لیپیدهای سرم و نسبت هتروفیل به لنفوسیت جوجه‌های گوشتی. SEM) میانگین انحراف استاندارد. (\*) معنی داری در سطح ۵٪. (a,b,c) در هر ستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند.

تیمار	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	تری‌گلیسرید (mg/dl)	آلبومین (mg/dl)	پروتئین کل (g/dl)	نسبت هتروفیل به لنفوسیت (g/dl)
پروبیوتیک	۵۷۰۸ <sup>b</sup>	۹۹/۲۸ <sup>a</sup>	۱۸۲/۶۲ <sup>a</sup>	۱۵۸/۴۳ <sup>ab</sup>	۳/۱۳۸ <sup>a</sup>	۵/۹۲۳ <sup>a</sup>	۰/۰۹۰ <sup>c</sup>
آویشن	۶۷۶۰ <sup>a</sup>	۸۹/۱۳ <sup>a</sup>	۱۷۵/۵۲ <sup>ab</sup>	۱۴۹/۶۷ <sup>b</sup>	۳/۰۷۷ <sup>a</sup>	۵/۶۳۹ <sup>a</sup>	۰/۱۶۶ <sup>bc</sup>
شاهد منفی	۵۸/۹۶ <sup>a</sup>	۹۷/۳۴ <sup>a</sup>	۱۸۱/۹۲ <sup>a</sup>	۱۵۸/۱۰ <sup>ab</sup>	۳/۱۲۸ <sup>a</sup>	۵/۸۰۰ <sup>a</sup>	۰/۱۴۹ <sup>bc</sup>
شاهد مثبت	۴۵/۱۶ <sup>b</sup>	۱۰۰/۴۹ <sup>a</sup>	۱۸۲/۹۱ <sup>a</sup>	۱۶۳/۷۰ <sup>a</sup>	۲/۶۸۲ <sup>a</sup>	۵/۰۵۲ <sup>b</sup>	۰/۲۶۹ <sup>a</sup>
برهموم	۴۸/۶۷ <sup>b</sup>	۹۶/۷۶ <sup>a</sup>	۱۸۱/۲۳ <sup>a</sup>	۱۶۲/۷۵ <sup>a</sup>	۳/۱۲۰ <sup>a</sup>	۵/۶۰۹ <sup>a</sup>	۰/۱۶۹ <sup>bc</sup>
ویرجینیامیسین	۵۷۹۰ <sup>b</sup>	۸۹/۶۷ <sup>a</sup>	۱۸۷/۱۸ <sup>a</sup>	۱۵۲/۶۱ <sup>ab</sup>	۲/۹۹۷ <sup>a</sup>	۵/۴۰۹ <sup>ab</sup>	۰/۱۱۲ <sup>bc</sup>
رزماری	۶۷۵۱ <sup>a</sup>	۸۹/۳۹ <sup>a</sup>	۱۶۸/۳۷ <sup>b</sup>	۱۴۸/۳۷ <sup>b</sup>	۳/۰۲۵ <sup>a</sup>	۵/۸۰۷ <sup>a</sup>	۰/۱۹۱ <sup>b</sup>
معنی داری	*	NS	NS	*	NS	*	*
SEM	۷۳۶۳۱	۷۶۰۰۵	۷۵۵۷۸	۷۶۰۹۳	۰/۰۵۸۶	۰/۰۷۴۳	۰/۰۱۳۲

جدول ۲. تأثیر عصاره‌های گیاهی، پروبیوتیک، آنتی‌بیوتیک و برهموم بر سیستم ایمنی و درصد هماتوکریت جوجه‌های گوشتی. SEM: میانگین انحراف استاندارد. \*: معنی داری در سطح ۵٪. (a,b,c) در هر ستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند.

تیمار	پاسخ به تزریق فیتوهمگلوتینین (افزایش ضخامت پوست به میلی متر)	هماتوکریت (%)	عیار پادتن علیه گلوبول قرمز گوسفند (log <sub>2</sub> )	عیار پادتن علیه ویروس واکسن نیوکاسل (log <sub>2</sub> )
شاهد منفی	۰/۶۵ <sup>b</sup>	۲۹/۷۵ <sup>a</sup>	۸ <sup>b</sup>	۲/۶۶ <sup>bc</sup>
شاهد مثبت	۰/۵۸ <sup>b</sup>	۲۵/۵۰ <sup>ab</sup>	۹/۱۶ <sup>ab</sup>	۳/۵۰ <sup>abc</sup>
آویشن	۰/۹۵ <sup>a</sup>	۳۷/۵۰ <sup>a</sup>	۱۰/۸۳ <sup>ab</sup>	۳/۸۳ <sup>ab</sup>
رزماری	۰/۵۷ <sup>b</sup>	۲۲/۷۵ <sup>b</sup>	۹/۸۳ <sup>ab</sup>	۳/۸۳ <sup>ab</sup>
ویرجینیامیسین	۰/۵۷ <sup>b</sup>	۲۹/۳۳ <sup>a</sup>	۱۰/۱۶ <sup>ab</sup>	۴/۵۰ <sup>a</sup>
پروبیوتیک	۰/۷۸ <sup>ab</sup>	۳۰/۳۳ <sup>a</sup>	۱۲ <sup>a</sup>	۴/۶۶ <sup>a</sup>
برهموم	۰/۷۴ <sup>ab</sup>	۳۰/۶۶ <sup>a</sup>	۸/۱۶ <sup>b</sup>	۲/۵۰ <sup>c</sup>
معنی داری	*	NS	NS	*
SEM	۰/۰۳۸۱	۰/۸۷۸۱	۰/۴۲۸۲	۰/۲۰۱۵

نشان داد که بین تیمارها از نظر این فاکتور اختلاف معنی داری وجود ندارد ( $p > 0.05$ ). از لحاظ LDL در سرم خون جوجه‌های گوشتی بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). بیشترین میزان آلبومین مربوط به تیمار پروبیوتیک بوده اما تفاوت معنی داری با سایر تیمارها نداشت. افزایش میزان پروتئین تام در تیمار پروبیوتیک نسبت به تیمار شاهد مثبت معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). نسبت هتروفیل به لنفوسیت در تیمار پروبیوتیک نسبت به تیمارهای رزماری و شاهد مثبت اختلاف معنی داری نشان داد ( $p < 0.05$ ). کمترین نسبت هتروفیل به لنفوسیت مربوط به تیمار پروبیوتیک بود که اختلاف معنی داری را با تیمارهای رزماری و شاهد مثبت نشان داد.

**میکروفولور روده:** نتایج مربوط به آزمایش‌ها میکروفولور روده در جدول ۳ نشان داده شده است. کمترین شمارش پرگنه سالمونلا در تیمار شاهد منفی و بیشترین شمارش پرگنه در تیمار رزماری مشاهده شد و از این نظر بین تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). از نظر شمارش پرگنه باکتری‌های اشریشیاکلی بین تیمار آویشن با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) که آویشن کمترین شمارش پرگنه را به خود اختصاص داد که بیانگر اثر مثبت عصاره آویشن بر کاهش اشریشیاکلی می‌باشد. از نظر شمارش پرگنه کل باکتری‌های هوازی بیشترین پرگنه در تیمار پروبیوتیک و کمترین آن در تیمار شاهد منفی مشاهده شد. در بین تیمارهای آزمایشی، تیمار پروبیوتیک اختلاف

معنی داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). تیمار برهموم کمترین عیار پادتن علیه

**عملکرد سیستم ایمنی:** نتایج آزمایش‌های مربوط به درصد هماتوکریت، عیار پادتن علیه گلوبول قرمز گوسفند، عیار پادتن علیه ویروس واکسن نیوکاسل و پاسخ به تزریق فیتوهمگلوتینین در جدول ۲ نشان داده شده است. از نظر بررسی فاکتورهای آزمایشی بر درصد هماتوکریت جوجه‌های گوشتی، اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ) عیار پادتن علیه ویروس واکسن نیوکاسل در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). تیمار برهموم کمترین عیار پادتن علیه



جدول ۳. تأثیر عصاره‌های گیاهی، پروبیوتیک، آنتی‌بیوتیک و بره‌موم بر جمعیت میکروفلور روده جوجه‌های گوشتی. (\*\*): نتایج به صورت لگاریتم تعداد پرگنه در یک گرم محتویات ایلئو سکال نشان داده شده است. SEM: میانگین انحراف استاندارد. \*: معنی‌داری در سطح ۵٪. (a,b,c,d): در هر ستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

تیمار	Salmonella** (log CFU/g)	E.coli** (log CFU/g)	Total count of aerobic bacteria** (log CFU/g)	Lactic acid bacteria** (log CFU/g)	Streptococcus** (log CFU/g)	Bacillus** (log CFU/g)
شاهد منفی	۶/۲۴ <sup>b</sup>	۷/۷۱ <sup>a</sup>	۷/۱۸ <sup>b</sup>	۶/۸۴ <sup>b</sup>	۸/۱۴ <sup>c</sup>	۴/۰۴۹ <sup>a</sup>
شاهد مثبت	۷/۴۴ <sup>a</sup>	۷/۴۵ <sup>a</sup>	۸/۰۲ <sup>bc</sup>	۶/۶۹ <sup>b</sup>	۸/۴۸ <sup>abc</sup>	۳/۹۶۴ <sup>a</sup>
آویشن	۷/۲۰ <sup>a</sup>	۶/۱۳ <sup>b</sup>	۷/۴۱ <sup>d</sup>	۶/۳۵ <sup>b</sup>	۷/۵۷ <sup>d</sup>	۴/۱۹۱ <sup>a</sup>
رززاری	۷/۵۸ <sup>a</sup>	۷/۶۵ <sup>a</sup>	۸/۴۶ <sup>a</sup>	۶/۴۹ <sup>b</sup>	۸/۲۴ <sup>bc</sup>	۴/۰۱۲ <sup>a</sup>
ویرجینیا مایسین	۷/۲۹ <sup>a</sup>	۷/۳۳ <sup>a</sup>	۷/۹۱ <sup>c</sup>	۶/۷۹ <sup>b</sup>	۸/۷۵ <sup>a</sup>	۳/۶۶۳ <sup>a</sup>
پروبیوتیک	۷/۴۸ <sup>a</sup>	۷/۵۳ <sup>a</sup>	۸/۲۳ <sup>ab</sup>	۷/۵۲ <sup>a</sup>	۸/۶۷ <sup>a</sup>	۴/۰۸۵ <sup>a</sup>
بره‌موم	۷/۵۷ <sup>a</sup>	۷/۵۲ <sup>a</sup>	۷/۷۸ <sup>c</sup>	۶/۷۵ <sup>b</sup>	۸/۵۲ <sup>ab</sup>	۴/۰۹۲ <sup>a</sup>
معنی‌داری	*	*	*	*	*	NS
SEM	۰/۰۹۴۹	۰/۱۱۱۲	۰/۰۶۶۳	۰/۰۹۴۵	۰/۰۸۰۷	۰/۰۶۶۱

جدول ۴. اثر استفاده از عصاره‌های گیاهی، بره‌موم، پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی. SEM: میانگین انحراف استاندارد. \*: معنی‌داری در سطح ۵٪. (a,b): در هر ستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

تیمار	بورس (%)	تیموس (%)	طحال (%)
شاهد منفی	۰/۰۴۱ <sup>b</sup>	۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۱۰ <sup>a</sup>
آنتی‌بیوتیک	۰/۰۶۱ <sup>a</sup>	۰/۱۰ <sup>a</sup>	۰/۱۴ <sup>a</sup>
بره‌موم	۰/۰۴۱ <sup>b</sup>	۰/۱۳ <sup>a</sup>	۰/۱۳ <sup>a</sup>
رززاری	۰/۰۴۵ <sup>ab</sup>	۰/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۱۱ <sup>a</sup>
آویشن	۰/۰۵۶ <sup>ab</sup>	۰/۱۴ <sup>a</sup>	۰/۰۹ <sup>a</sup>
پروبیوتیک	۰/۰۴۲ <sup>b</sup>	۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۱۰ <sup>a</sup>
شاهد مثبت	۰/۰۴۵ <sup>ab</sup>	۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۱۰ <sup>a</sup>
معنی‌داری	*	NS	NS
SEM	۰/۰۰۲۳	۰/۰۰۵۵	۰/۰۰۵۷

وزن نسبی اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی و با توجه به جدول ۴ از نظر وزن بورس فابرسیوس اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). تیمار آنتی‌بیوتیک دارای بیشترین وزن بورس بود و اختلاف معنی‌داری را با تیمارهای شاهد منفی، بره‌موم و پروبیوتیک نشان داد. در بررسی وزن تیموس و طحال اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد.

**راندمان‌های پرورشی:** ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای آزمایشی و با توجه به جدول ۵ دارای تفاوت بود ( $p < 0.05$ ). در بین تیمارها گروه شاهد منفی ضریب تبدیل بهتری را نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد و گروه شاهد مثبت دارای بدترین عملکرد از لحاظ ضریب تبدیل غذایی بود که می‌توان نتیجه گرفت تیمارهای آزمایشی باعث کاهش اثر سالمونلا انتریتیدیس و در نتیجه بهبود ضریب تبدیل غذایی شده‌اند. در ارتباط با افزایش وزن و با توجه به جدول ۵، بین تیمارهای آزمایشی تفاوت دیده شد ( $p < 0.05$ ). نتیجه اینکه در بین تیمارهای آزمایشی، تیمار حاوی عصاره اتانولی بره‌موم و آنتی‌بیوتیک دارای بهترین عملکرد از لحاظ افزایش وزن بود و تیمار شاهد مثبت بدترین عملکرد را به خود اختصاص داد. در جدول ۵ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شاخص تولید اروپایی ارائه شده است. این شاخص علاوه بر

جدول ۵. اثر استفاده از عصاره‌های گیاهی، بره‌موم، پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره ۰ تا ۴۲ روزگی. SEM: میانگین انحراف استاندارد. \*: معنی‌داری در سطح ۵٪. (a,b,c): در هر ستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

تیمار	ضریب تبدیل	افزایش وزن (kg)	شاخص اروپایی
شاهد منفی	۷/۶۷ <sup>b</sup>	۲/۰۹ <sup>abc</sup>	۳۶۵/۴۹ <sup>a</sup>
بره‌موم	۷/۹۰ <sup>a</sup>	۲/۱۹ <sup>a</sup>	۳۳۷/۷۴ <sup>ab</sup>
پروبیوتیک	۷/۸۹ <sup>a</sup>	۲/۰۷ <sup>bc</sup>	۳۱۲/۵۹ <sup>b</sup>
رززاری	۷/۹۱ <sup>a</sup>	۲/۰۵ <sup>bc</sup>	۳۱۶/۵۶ <sup>b</sup>
آنتی‌بیوتیک	۷/۸۱ <sup>a</sup>	۲/۱۳ <sup>ab</sup>	۳۲۹/۳۴ <sup>ab</sup>
آویشن	۷/۸۳ <sup>a</sup>	۲/۰۱ <sup>c</sup>	۳۳۷/۵۳ <sup>ab</sup>
شاهد مثبت	۷/۹۴ <sup>a</sup>	۱/۹۸ <sup>c</sup>	۳۲۷/۴۵ <sup>b</sup>
معنی‌داری	*	*	NS
SEM	۰/۰۲	۰/۰۲	۵/۲۳

معنی‌داری را با سایر تیمارها از نظر میزان باکتری‌های اسید لاکتیک نشان داد ( $p < 0.05$ ). شمارش پرگنه استریتوکوک‌ها در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان داد به طوری که بیشترین و کمترین پرگنه به ترتیب در تیمارهای ویرجینیا مایسین و آویشن مشاهده شد.

وزن نسبی اندام‌های لنفاوی: از نظر بررسی فاکتورهای آزمایشی بر



لنفوسیت‌ها می‌باشد که دیرتر وارد عمل می‌شوند. Rhee و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش در توسعه بافت لنفاوی وابسته به دستگاه گوارش (GALT) و تحریک سیستم ایمنی نقش دارند (۳۴). تحریک ایمنی طبیعی منجر به بهبود پاسخ ایمنی اکتسابی در حضور پادگن‌ها می‌شود. نشان داده شده که باکتری‌های پروبیوتیک باعث افزایش پاسخ ایمنی خونی و سلولی در مقابل ای. کولای (۲۴) و سالمونلا انتریتیدیس (۲۰) می‌شود. Park و همکاران در سال ۱۹۹۸ فعالیت ضد میکروبی را بر میکروارگانسیم‌های خوراکی آزمایش کردند (۲۸). Sosa و همکاران در سال ۱۹۹۷ مشاهده کردند که نمونه‌های بره‌موم رشد برخی از باکتری‌های گرم مثبت و کاندیدا آلبیکنس را بدون اثر بر رشد باکتری‌های گرم منفی، مهار می‌کند (۴۰). کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در گروه حاوی پروبیوتیک مطابق با نتایج Kalandakamond در سال ۲۰۰۸ می‌باشد (۱۷). Shoeib و همکاران در سال ۱۹۹۶ اثر پروبیوتیک حاوی باکتری اسیدلاکتیک زنده را بر روی سیستم ایمنی جوجه‌ها بررسی کردند و مشاهده کردند که تعداد کل گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها افزایش یافته بود (۳۹). می‌توان نتیجه گرفت که افزایش تعداد لنفوسیت‌ها در خون مطابق افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون، می‌تواند در تحریک سیستم ایمنی بدن حیوانات نقش مهمی را ایفا نماید. به عبارت دیگر بدن حیوان، میکروارگانسیم‌های پروبیوتیک را به عنوان یک موجود خارجی در نظر گرفته و سیستم دفاعی و ایمنی را در مقابل این میکروارگانسیم‌ها فعال و تحریک می‌نماید، که نتیجه آن افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون و دیگر ترکیبات ایمنی‌زا است. در تحقیقی که توسط Khaksefidi و Rahimi در سال ۲۰۰۶ انجام شد، استفاده از ۰/۱٪ پروبیوتیک با یوپلاس ۲B، تحت شرایط تنش گرمایی، به طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در مقایسه با گروه شاهد گردید (۱۸،۳۳). در خصوص تیترا پادتن بر علیه SRBC گروه دریافت کننده پروبیوتیک که بالاترین میزان تیترا را از خود نشان داد، اختلاف معنی‌داری را با سایر گروه‌ها به جز شاهد مثبت، آویشن، رزماری و ویرجینیامایسین داشت. Midilli و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که تیترا آنتی‌بادی بر علیه SRBC در مرغ‌هایی که جیره‌های حاوی پروبیوتیک را مصرف نمودند اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد ایجاد نکردند (۲۳) اما Panda و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که بعضی از پروبیوتیک‌ها می‌توانند پرند را به تولید پاسخ‌های ایمنی کافی برای مقاومت در برابر پاتوژن‌های میکروبی تحریک کنند (۲۷). همچنین Khaksefidi و Ghoorchi در سال ۲۰۰۶ با تزریق SRBC به جوجه‌های گوشتی در جیره‌های دارای پروبیوتیک، تیترا آنتی‌بادی بالاتری را در روزهای ۷ و ۱۴ آزمایش مشاهده کردند (۱۸). در تحقیق حاضر مشاهده شد که پروبیوتیک تأثیری معنی‌دار بر میزان پادتن علیه نیوکاسل دارد. بالاترین تیترا پادتن نیوکاسل مربوط به گروه پروبیوتیک بود که اختلافی معنی‌دار را

وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر درصد ماندگاری گله و تعداد روزهای پرورش پرند نیز قرار می‌گیرد. افزایش وزن پرند و افزایش درصد ماندگاری شاخص را افزایش می‌دهد، اما افزایش ضریب تبدیل خوراک و تعداد روزهای پرورش باعث کاهش این شاخص می‌گردد. با توجه به جدول، این شاخص در تیمارها معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ).

## بحث

کاهش در میزان کلسترول تام، تری گلیسرید و LDL و افزایش معنی‌دار میزان HDL در گروه‌های دریافت کننده عصاره‌های گیاهی نسبت به سایر گروه‌ها نشانگر مؤثر بودن این عصاره‌ها در تعدیل لیپیدهای خون است. تریپونیدهای موجود در عصاره الکلی گیاهان دارویی باعث کاهش معنی‌دار در غلظت LDL می‌شوند (۸،۳۱). اجزاء اصلی تشکیل دهنده آویشن تیمول، کارواکرول، پاراسیمول، لینالول و سینئول هستند. در تحقیقی کارواکرول غلظت تری گلیسریدهای پلاسما را کاهش داد، اما کلسترول پلاسما تحت تأثیر قرار نگرفت (۲۱). گزارش شده است که غلظت کلسترول و تری گلیسرید سرم خون با استفاده از اسانس آویشن، رزماری و مریم گلی در جیره مرغ‌های تخمگذار کاهش یافته است (۴) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشت. Ghazalah و Ali در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که ۰/۵٪ رزماری در جیره می‌تواند میزان لیپید کل و محتوی کلسترول را کاهش دهد (۱۲). در مطالعه‌ای Case و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که تیمول و کارواکرول در غلظت ۱۵۰ ppm کلسترول و تری گلیسرید سرم را در مرغ‌های لگهورن کاهش داد (۵). با توجه به اینکه لاکتوباسیل‌ها می‌توانند در روده کوچک، کلسترول را متابولیسم نموده و جذب نمایند و سبب کاهش جذب آن از طریق خون شوند، موجب کاهش سطح کلسترول خون می‌شوند. در ارتباط با میزان پروتئین تام در سرم جوجه‌های گوشتی گروه پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد مثبت مشاهده شد که این نتایج با نتایج آزمایش Mateova و همکاران در سال ۲۰۰۹ مطابقت داشت (۲۲). طبق مطالعه مذکور افزودن پروبیوتیک به جیره مرغ‌های تخمگذار سبب افزایش معنی‌دار پروتئین تام سرم شد. پروتئین تام نشانگر کل پروتئین‌های موجود در سرم از جمله آلفا، بتا و گاما گلوبولین‌ها، آلبومین و ایمینوگلوبولین می‌باشد. به طور کلی استفاده از پروبیوتیک سبب غلبه بر باکتری‌های تجزیه کننده قند (ساکارولیتیک) به باکتری‌های تجزیه کننده پروتئین (پروتولیتیک) در روده می‌شود. در نتیجه، هضم پروتئین‌ها افزایش و تجزیه آنها کاهش می‌یابد. بنابراین، میزان پروتئین تام سرم افزایش و بهره‌وری پروتئین جیره بهبود می‌یابد (۲). در تحقیقات Nursoy و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام دادند هیچ گونه تغییری در پروتئین تام پلاسما جوجه‌های گوشتی پس از استفاده از پروبیوتیک مشاهده نکردند (۲۶). نسبت هتروفیل به لنفوسیت بیان کننده کیفیت تعادل بین دفاع غیر اختصاصی و سریع هتروفیل‌ها و دفاع اختصاصی



تیمارها دارای کمترین مقدار بود. عصاره آویشن رشد فلور مفید روده را تحریک کرده و در نتیجه حضور باکتری‌های گرم منفی مانند اشریشیاکلی و سالمونلا را کاهش می‌دهد. Christopher و Mohan-Kumar در سال ۱۹۸۸ مشاهده نمودند که باکتری‌های اسیدلاکتیک بر ساخت ویتامین‌های B<sub>12</sub> و K مؤثر می‌باشند (۲۵). باکتری‌های مزبور همچنین قادرند سویه‌های مختلف باکتری‌های بیماریزا از جمله اشریشیاکلی، سالمونلا، شیگلا، پاستورلا و استافیلوکوکوس را از محیط روده حذف نمایند. کاهش تعداد کلی‌فرم‌ها در پرندگان تغذیه شده با اسانس آویشن یا با مخلوط‌های تجاری اسانس‌های فرار محتوی تیمول نیز مشاهده شده است (۱۶). Taheri و همکاران در سال ۲۰۱۰ تأثیر پروبیوتیک‌ها بر کاهش جمعیت کلی‌باسیل‌ها در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی را مثبت گزارش کردند (۴۲). Falaki و همکاران در سال ۲۰۱۰ تأثیر پروبیوتیک پریمالاک را بر فلور میکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی بررسی و مشاهده نمودند که پریمالاک به صورت معنی‌داری جمعیت لاکتوباسیل‌ها را در ایلئوم و سکوم افزایش می‌دهد (۹). نتایج حاصل از این تحقیق در ارتباط با وزن نسبی اندام‌های لنفاوی نشان داد که گروه‌ها از نظر وزن نسبی بورس فابریسیوس دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند. گیاهان غنی از فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها مانند شیرین بیان، مریم گلی، آویشن با افزایش فعالیت ویتامین C باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شوند، این گیاهان با اثرات ضد باکتریایی خود موجب تقویت سیستم ایمنی می‌شوند (۶). به طور کلی اندام‌هایی از جمله کبد، بورس فابریسیوس، طحال و روده نقش یکپارچه‌ای در پاسخ به واکنش‌های التهابی از طریق افزایش وزن خود دارند (۳۵). در یک آزمایش با استفاده از بره‌موم افزایش وزن تیموس، عقده‌های لنفاوی و بورس فابریسیوس و نیز مقدار بالای تولید پادتن‌های خون در مقایسه با شاهد مشاهده شد (۱۳).

نتیجه‌گیری کلی اینکه از گیاهان دارویی فوق الذکر و پروبیوتیک می‌توان به عنوان محرک رشد به جای آنتی‌بیوتیک‌ها در خوراک طیور استفاده نمود.

### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه تربیت مدرس به خاطر تأمین هزینه انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

### References

1. Al-Kassie, G.A. (2009) Influence of two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. *Pak Vet J.* 29: 169-173.
2. Baba, E., Nagaishi, S., Fukata, T., Arakava, A. (1991) The role of intestinal microflora on the prevention of *Salmonella* colonization in gnotobiotic chicks. *Poult Sci.* 70: 1902-1907.

با گروه‌های بره‌موم و شاهد منفی نشان داد. به طور کلی تحریک سیستم ایمنی توسط پروبیوتیک‌ها از طریق تولید پادتن‌ها، افزایش فعالیت سلول‌های بیگانه خوار، افزایش سطح پروتئین تام سرم و بالا رفتن نسبت گلوبولین‌ها و آلبومین‌ها و افزایش تعداد گلوبول‌های سفید انجام می‌گیرد (۱۱). عده‌ای از محققین بر این باورند که لاکتوباسیل‌ها به طور غیر مستقیم با اثر بر دیگر اجزای میکروفلور روده و انجام یکسری فعل و انفعالات، تحریک سیستم ایمنی بدن را سبب می‌شود (۱۵). طبق تحقیقات Fuller در سال ۱۹۸۹، تحریک سیستم ایمنی توسط پروبیوتیک‌ها ممکن است به واسطه افزایش فعالیت سلول‌های T، افزایش فعالیت سلول‌های بیگانه‌خوار و افزایش سطح پروتئین سرم باشد (۱۱). در تحقیقی Rowghani و همکاران در سال ۲۰۰۷ با تغذیه باکتوسل به جوجه‌ها بهبود تیترا آنتی‌بادی را علیه ویروس نیوکاسل مشاهده نمودند (۳۶). گزارش شده تغذیه پرندگان با پروبیوتیک پروتکسین باعث افزایش تیترا آنتی‌بادی در برابر واکسن نیوکاسل می‌شود (۳۵). بنابراین افزایش معنی‌دار در تیترا پادتن علیه نیوکاسل در گروه پروبیوتیک را می‌توان به افزایش درصد لنفوسیت‌ها در این گروه نسبت داد. نتایج حاصل از این تحقیق در خصوص میزان هماتوکریت اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. در بین گروه‌ها، گروه حاوی عصاره آویشن بیشترین مقدار هماتوکریت را به خود اختصاص داد. با توجه به این که ساپونین‌ها از اجزاء آویشن می‌باشند، گزارش شده که سطوح پایین ساپونین می‌تواند با افزایش قطر پرزهای روده جذب مواد مغذی از روده را افزایش دهند، افزایش قطر پرزها باعث افزایش نفوذپذیری روده به مولکول‌هایی مانند فریتین می‌شود (۳۷، ۳۸). ممکن است فریتین بر درصد هماتوکریت مؤثر باشد. Strompfova و همکاران در سال ۲۰۰۵ نیز گزارش نمودند که استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فرمنتوم، موجب افزایش هماتوکریت خون می‌گردد (۴۱). Al-Kassie و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که تغذیه با عصاره روغنی بدست آمده از آویشن و دارچین در جوجه‌های گوشتی به طور معنی‌داری مقدار هماتوکریت را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد (۱). آزمایش عملکرد سیستم ایمنی از لحاظ میزان پاسخ به فیتوهماگلوئین در این مطالعه نشان داد که گروه حاوی عصاره آویشن بهترین عملکرد را در بین گروه‌های آزمایشی داشته و اختلاف معنی‌داری را با سایر گروه‌ها بجز گروه پروبیوتیک و بره‌موم نشان می‌دهد. گیاهان غنی از فلاونوئیدها و تربین‌ها مانند شیرین بیان، مریم گلی، آویشن با افزایش فعالیت ویتامین C باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شوند، این گیاهان با اثرات ضد باکتریایی خود به طور غیر مستقیم موجب تقویت سیستم ایمنی می‌شوند (۶) بنابراین می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که عصاره آویشن از طریق بهبود سیستم ایمنی می‌تواند باعث بهبود پاسخ به فیتوهماگلوئین نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی شود. این تحقیق نشان داد که تیمار دریافت کننده آویشن دارای کمترین شمارش اشریشیاکلی می‌باشد. میزان کلونی‌های سالمونلا در تیمارهای شاهد منفی و آویشن نسبت به سایر



3. Babu, U.S., Wiesenfeld, P.L., Jenkins, M.Y. (1998) Effect of dietary rosemary extract on cell-mediated immunity of young rats. *Plant Food Hum Nutr.* 53: 169-174.
4. Bolukbasi, S.C., Erhan, M.K., Kaynar, O. (2008) The effect of feeding thyme, sage and rosemary oil on laying hen performance, cholesterol and some proteins ratio of egg yolk and *E. coli* count in feces. *Arch Fu Gef.* 72: 231-237.
5. Case, G.L., He, L., Mo, H., Elson, C.E. (1995) Induction of geranyl pyrophosphate pyrophosphatase activity by cholesterol-suppressive isoprenoids. *Lipids.* 30: 357-359.
6. Cook, N.C., Samman, S. (1996) Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem.* 7: 66-76.
7. Corrier, D.E., Deloach, J.R. (1990) Evaluation of cell mediated cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. *Poult Sci.* 69: 403-408.
8. Elson, C.E., Yu, S.G. (1994) The chemoprevention of cancer by mevalonate-derived constituents of fruits and vegetables. *J Nutr.* 124: 607-614.
9. Falaki, M., Shargh, M.S., Dastar, B., Zerehdaran, S., Khomairi, M. (2011) The investigation of Intestinal Microflora and Growth Response of Young Broilers Given Feed Supplemented with Different Levels of Probiotic and Prebiotic. *J Anim Vet Adv.* 10: 385-390.
10. Fu, X.Q., Liu Z.J. (1997) Microhemagglutination inhibition (HI) test. 97, In: *Handbook of Poultry Diseases Detection.* Fu, X.Q., Liu, Z.J. (eds.). China Agriculture University Press, Beijing, China, Total pages.
11. Fuller, R. (1989) A Review: Probiotics in man and animals. *J Apple Bacteriol.* 66: 365-378.
12. Ghazalah, A.A., Ali, A.M. (2008) Rosemary leaves as a dietary supplement for growth in broiler chickens. *J Poult Sci.* 7: 234-239.
13. Ghisalberti, E.L. (1979) Propolis: a review. *Bee World.* 60: 59-84.
14. Hegazi, A.G., Abdel-Hady, F.K. (2002) Effect of some honey bee products on immune response of chicken infected with virulent NDV. *Egyptian propolis: II-Chemical composition, antiviral and antimicrobial activities of East Nile Delta propolis.* *Z. Naturforsch.* 57c: 386-394.
15. Inooka, S., Kimura, M. (1983) The effect of *Bacillus natto* in feed on the sheep red blood cell antibody response in chickens. *Avian Dis.* 1086-1089.
16. Jang, I., Ko, Y., Kang, S., Lee, C. (2007) Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Anim Feed Sci Tech.* 134: 304-315.
17. Kalandakanond, S., Thngsong, T.B., Chavananikul, V. (2008) Blood haematological cholesterol profile and antibody Titer response of broilers with added probiotic containing both bacteria and yeast or an antibiotic in drinking water. *Thai J Vet Med.* 38: 45-56.
18. Khaksefidi, A., Ghoorchi, T. (2006) Effect of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chicks. *PoultSci.* 43: 296-300.
19. Kim, J., Marshall, M.R., Wei, C. (1995) Antibacterial activities of some essential oil components against five foodborne pathogens. *J Agr Food Chem.* 43: 2839-2845.
20. Koenen, M.E., Kramer, J., Van Der Hulst, R., Heres, L., Jeurissen, S.H.M., Boersma, W.J.A. (2004) Immunomodulation by probiotic lactobacilli in layer- and meat-type chickens. *Brit Poultry Sci.* 45: 355-366.
21. Lee, K.W., Evert, H., Kappert, H.J., Frehner, M., Losa, R., Beynen, A.C. (2003) Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *Brit Poultry Sci.* 44: 450-457.
22. Mateova, S., Gaálová, M., Šály, J., Fialkovičová, M. (2009) Investigation of the effect of probiotics and potentiated probiotics on productivity of laying hens. *Czech J Anim Sci.* 54: 24-30.
23. Midilli, M.M., Kocabagli, N., Muglali, O.H., Turan, N., Yilmaz, H., Cakir, S. (2008) Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth performance and serum IgG concentration of broilers. *S Afr J Anim Sci.* 38: 21-27.



24. Miettinen, M., Matikainen, S., Vuopio-Varkila, J., Pirhonen, J., Varkila, K., Kurimoto, M., Julkunen, I. (1998) Lactobacilli and Streptococci induce interleukin-12 (IL-12), IL-18, and Gamma interferon production in human peripheral blood mononuclear cells infect. *Immun.* 66: 6058-6062.
25. Mohan-Kumar, O.R., Christopher, K.J. (1988) The role of Lactobacillus Sporogenes (Probiotic) as Feed additive. *Poult Guide.* 25: 37-40.
26. Nursoy, H., Kaplan, O., Oguz, M., Yilmaz, O. (2004) Effects of varying levels of live yeast culture on yield and some parameters in laying hen diets. *Indian Vet J.* 81: 59-62.
27. Panda, A.K., Reddy, M.R., Rama Rao, S.V., Raju, M.V.L.N., Praharaj, N.K. (2000) Growth, carcass characteristics, immunocompetence and response to Escherichia coli of broilers fed diets with various levels of probiotic. *Archiv für Geflügelkunde.* 64: 152-156.
28. Park, Y.K., Koo, M.H., Abreu, J.A.S., Ikegaki, M., Cury, J.A., Rosalen, P.L. (1998) Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Curr Microbiol.* 36: 24-28.
29. Patterson, T.A., Barkholder, K.M. (2004) Application of prebiotics and probiotics in Pharmacological screening of some medicinal plants as antimicrobial and feed additives. *Poult Sci.* 82: 627-637.
30. Patterson, J.A., Burkholder, K.M. (2003) Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poult Sci.* 82: 627-631.
31. Pearce, B.C., Parker, R.A., Deason, M.E., Qureshi, A.A., Wright, J.J. (1992) Hypocholesterolemic activity of synthetic and natural tocotrienols. *J Med Chem.* 35: 3595-606.
32. Peterson, A.L., Qureshi, M.A., Ferket, P.R., Fuller, J.C. (1999) Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate. *Immunopharm. Immunot.* 21: 307-330.
33. Rahimi, Sh., Khaksefidi, A. (2006) A comparison between the effects of a probiotic (bioplus 2B) and antibiotic (virginamycin) on the performance of broiler chickens under heat stress condition. *I J V R.* 7: 23-28.
34. Rhee, K.J., Jasper, P.J., Sethupathi, P., Shanmugam, M., Lanning, D., Knight, K.L. (2005) Positive selection of the peripheral B cell repertoire in gut-associated lymphoid tissues. *J Exp Med.* 201: 55-2.
35. Roura, E., Homedes, J., klasing, K.C. (1992) Prevention of immunologic stress contributes to the growth permitting ability of dietary antibiotics in chicks. *J Nutr.* 122: 2383-2390.
36. Rowghani, E., Arab, M., Akbarian, A. (2007) Effects of a probiotic and other feed additives on performance and immune response of broiler chicks. *J Poult Sci.* 6: 261-265.
37. Seeman, P. (1974) Ultrastructure of membrane lesions in immune lysis, osmotic lysis and drug-induced lysis. *Fed Proc.* 33: 2116-2124.
38. Seeman, P., Cheng, D., Iles, G.F. (1973) Structure of membrane holes in, osmotic and saponin hemolysis. *J Cell Biol.* 56: 519-527.
39. Shoeib, H., Sayed, A., Sotohy, S., Abdel-Ghaffar, S.K. (1996) Response of broiler chicks to probiotic (pronifer) supplementation. *Assiut Veterinary Medical Journal.* 36: 103-116.
40. Sosa, S., Baricevic, D., Cinco, M., Padovan, D., Tubaro, A., Della, L.R. (1997) Preliminary investigation on the anti-inflammatory and antimicrobial activities of propolis. *Phar Pharmacol. Lett.* 7: 168-171.
41. Stropfova, V., Marcianakova, M., Gancarcikova, S., Jonecova, Z., Scirankova, L., Guba, P., Koscova, J., Boldizarova, K., Laukova, A. (2005) New probiotic strain Lactobacillus fermentum AD1 and its effect in Japanese quail. *Vet Med Czech.* 50: 415-420.
42. Taheri, H.R., Moravej, H., Malakzadegan, A., Tabandeh, F., Zaghari, M., Shivazad, M., Adibmoradi, M. (2010) Efficacy of Pediococcus acidilactici-based probiotic on intestinal coliforms and villus height, serum cholesterol level and performance of broiler chickens. *Afr J Biotechnol.* 9: 7564-7567.





## Comparison of the effects extract of rosemary, thyme, propolis, antibiotic and probiotic on the immune system and blood parameters of broilers chickens challenged with *Salmonella* Enteritidis

Taher, M., Rahimi, S.\*, Karimi Torshizi, M.A., Ashori, A.

Department of Poultry Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received 5 March 2016, Accepted 21 April 2016)

### Abstract:

**BACKGROUND:** *Salmonella* Enteritidis in poultry is one of the main causes of illness that can be controlled effectively by some plant compounds, antibiotics and probiotics.

**OBJECTIVES:** This study compares the effect of rosemary, thyme, propolis, antibiotic and probiotic on the immune system and blood parameters of broilers challenged with *Salmonella* Enteritidis. **METHODS:** Four hundred and twenty 1-day-old male broiler chicks Cobb strain were divided into seven groups: including rosemary ethanol extract, ethanol extract of propolis, ethanol extract of thyme, and probiotics, virginiamycin (10%) and positive and negative controls, and were reared for 6 weeks. At the end of experiment chickens were sampled and slaughtered. **RESULTS:** The results showed that plant extracts with probiotics can improve the immune system, reduce serum lipids, reduce harmful bacteria such as *Salmonella* and *E.coli* and increase the beneficial bacteria such as lactic acid bacteria. **CONCLUSIONS:** This study showed that the herbal extracts and probiotics can be used as an alternative to antibiotics in broiler diets.

**Keyword:** rosemary, thyme, broilers, the immune system, *Salmonella* Enteritidis

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Effect of two plant extracts, probiotic, antibiotic and propolis on serum lipid and the ratio heterophile to lymphocyte broiler chickens.

**Table 2.** Effect of two plant extracts, probiotic, antibiotic and propolis on the immune system and hematocrit percentage of broilers chickens.

**Table 3.** Effect of two plant extracts, probiotic, antibiotic and propolis on intestinal microflora population of broiler chickens.

**Table 4.** Effect of two plant extracts, propolis, probiotic and antibiotic on the relative weight of lymphoid organs of broiler chickens at 42 days



\*Corresponding author's email: rahimi\_s@modares.ac.ir, Tel: 021-48292004, Fax: 021-48292200

J. Vet. Res. 71, 2, 2016