



## تأثیر مکمل های ضد میکروبی بر مورفولوژی روده کوچک در دستگاه گوارش جوجه های گوشتی

رضا مجیدزاده هروی<sup>۱</sup>، علی جوادمنش<sup>۲</sup> سجادحسن زاده<sup>۳\*</sup>

۱. استادیار گروه تغذیه طیور، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استادیار گروه ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد

\* ایمیل نویسنده مسئول: sajjad.hassanzade@yahoo.com

## چکیده

هدف از این پژوهش بررسی تغییرات مؤلفه های مورفولوژی در روده کوچک در جوجه های نر نژاد راس ۳۰۸ بود. بمنظور برآورد این تغییرات ۴۰۰ قطعه جوجه نژاد راس ۳۰۸ با میانگین وزن ۳۵ گرم در بهمن ماه سال ۱۳۹۶ در مرکز تحقیقات دام و طیور دانشگاه فردوسی مشهد، آنالیز گردید. بدین منظور از ۳ نوع مکمل با خاصیت ضد میکروبی برای آزمایش مورد نظر استفاده شد. نتایج مربوط به مصرف مکمل های ضد میکروبی نشان می دهد که مصرف مکمل پروبیوتیکی به صورت معنی داری در افزایش ارتفاع پرزه نقش داشته و همچنین تیمارهای اکسی تتراسایکلین و مکمل گیاهی به میزان بیش تری نسبت به گروه شاهد بر میزان عمق کریپت ها معنی دار بوده اند و کمتر نسبت به تیمار پروبیوتیک معنی دار نبوده اند.

واژه های کلیدی: مکمل ضد میکروبی، مورفولوژی روده کوچک، راس ۳۰۸

## مقدمه

صنعت طیور یکی از مهم ترین فعالیت های اقتصادی کشور هاست. در مقیاس بزرگ پرورش که در آن طیور در معرض شرایط تنش زا قرار می گیرند. اغلب مشکلات ناشی از عدم مدیریت در زمان بیماری و تغییر در شرایط محیطی رخ می دهد و در نتیجه باعث ایجاد ضررهای اقتصادی بسیار سنگین می گردد. از جمله عوامل مهم در این صنعت، مصرف خودسرانه و در مقیاس بالا از آنتی بیوتیک هاست. نتیجه کاربرد وسیع آنتی بیوتیکها به وجود آمدن عوامل بیماریزای مقاوم بوده که خود نیاز به تولید همیشگی انواع جدیدتر آنتی بیوتیکها را ایجاد کرده است و همچنین در صنعت مرغداری استفاده از آنتی بیوتیک و داروهای شیمیایی کاربرد بسیاری دارد و این در حالی است که پسماند این داروها در بدن مرغ می تواند اثرات نامطلوبی بر سلامت انسانها به عنوان مصرف کنندگان این محصولات، بر جای بگذارد (۱-۳). در آزمایشی که بر میزان بیان ژن میوسین در زمان استفاده از پروبیوتیک اسید لاکتیکی باسیلوس سوبتیلیس و اسید لاکتیک بر مورفولوژی و هیستومورفولوژی انجام شد و نشان داد جوجه هایی که با پروبیوتیک لاکتوباسیلوسی تغذیه شده اند، افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل و همچنین افزایش معنی داری در بیان ژن PEPT1 به همراه افزایش میزان ارتفاع پرزهای روده به دنبال استفاده از پروبیوتیک اسید لاکتیکی داشته اند و بیان ژن میوسین ۲ باعث افزایش بهبود و عملکرد رشد در جوجه ها شده است (علی اکبرپور، چمنی و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین نسبت باکتریهای اسیدلاکتیک در ایلئوم تحت تأثیر مقدار تجویز ۰/۰۵٪، ۱٪ و ۰/۱۵٪ پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد و ۰/۲٪ بود. مقدار سالمونلا حاضر در ایلئوم و همچنین باکتریهای کلیفرم ایلئوم در جیره حاوی ۰/۱۵٪ پروبیوتیک به مقدار قابل توجهی کاهش یافت و همچنین استفاده از ۰/۱۵٪ و ۰/۲٪ درصد پروبیوتیک اثرات مفیدی بر روی بافت دوازدهه و ارتفاع پرزهای روده داشت و علاوه بر این پرندگان تغذیه شده با ۰/۱۵٪ پروبیوتیک ارتفاع پرز های ژوژنوم آنها از گروه کنترل بیشتر بود، اما عرض پرزهای سطح ۰/۱٪، ۰/۱۵٪ و ۰/۲٪ نسبت به گروه کنترل به طور قابل توجهی کاهش یافته بود. همچنین عمق کریپت های ژوژنوم سطح ۰/۲٪ به میزان قابل توجهی نسبت به گروه کنترل کاهش می یابد (عشایرزاده، صمدی، زره داران و همکاران، ۲۰۱۶).



هدف از این مطالعه، استفاده از مکمل های ضد میکروبی همچون پروبیوتیک ها (سویه لاکتوباسیلوس و لاکتوباسیلوس و سالیواریوس)، مکمل های گیاهی (با نام تجاری ایکس ترکت که توسط شرکت Pancosma سوئیس، برترین تولید کننده محصولات فیتوژنیک در دنیا، محصولی با نام تجاری XTRACT™ ارائه نموده است که نتایج جالب و مثبتی به عنوان جایگزینی طبیعی برای آنتی بیوتیک ها به همراه داشته است. این محصول، ترکیب استاندارد از عصاره های گیاهی شامل Carvacrol، Cinnamaldehyde و Capsicum Oleoresin است که به ترتیب از گیاهان دارچین، آویشن و فلفل استخراج شده اند) در برابر آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین و مقایسه هر سه مورد ذکر شده بر مورفولوژی روده کوچک و بررسی میزان عمق کریپت ها، ارتفاع و عرض ویلی ها در دستگاه گوارش جوجه های گوشتی می باشد که در شرایط درگیری و بدون درگیری با عامل پاتوژن مورد بررسی قرار گرفته شد.

## مواد و روش ها

در این آزمایش به تأثیر مکمل های ضد میکروبی بر مورفولوژی روده کوچک و بررسی میزان عمق کریپت ها، ارتفاع و عرض ویلی ها در دستگاه گوارش جوجه های گوشتی که در شرایط درگیری و بدون درگیری با عامل پاتوژن در دستگاه گوارش جوجه های گوشتی راس ۳۰۸ در یک دوره ۴۵ روزه پرداختیم. جوجه های مورد آزمایش بطور تصادفی در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۴ تیمار با ۵ تکرار تقسیم می شوند. در داخل هر پن ۲۰ جوجه قرار می گیرد و در ۷ روزگی ۱۰ عدد از جوجه های هر پن جدا و دو نوبت به فاصله ۳ روز با باکتری پاتوژن ایکولای k99 به مقدار  $10^7$  باکتری تلقیح می شوند. در این مرحله جوجه های آلوده شده از جوجه های سالم جدا می گردند. تیمارهای مورد نظر به شرح زیر تقسیم می شوند. تقسیم بندی تیمار ها بصورت زیر صورت گرفت:

تیمار اول و (گروه شاهد): فاقد هرگونه مکمل خوراکی در جیره بوده و از جیره پایه استفاده می نماید. تیمار دوم: در این گروه از دوسویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس پلانتروم و لاکتوباسیلوس سالیواریوس بعنوان مکمل میکروبی به مقدار  $10^9$  cfu/kg استفاده می شود. تیمار سوم: در این گروه از مکمل عصاره گیاهی به میزان ۱۰۰ گرم در تن و به صورت خوراکی استفاده می شود. تیمار چهارم: در این گروه از آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین ۵۰٪ به میزان ۲۰۰-۴۰۰ گرم در یک تن دان به مدت ۱ تا ۲ هفته استفاده می شود. تغذیه پرندگان بر اساس دستور العمل راس ۳۰۸ انجام گرفته و جیره های استارتر تا ۱۰ روزگی و میان دان تا ۲۲ روزگی و پس دان تا ۴۲ روزگی به جوجه ها داده خواهد شد. شایان به ذکر است دسترسی پرندگان به آب و غذا به صورت آزاد بود. پروبیوتیک ها، مکمل گیاهی و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین همگی به علت این که به صورت پودر خشک هستند به صورت فیزیکی در زمان تهیه جیره به صورت مستقیم با جیره هر تیمار وارد گردید.

در روزه های سوم و هفتم بعد از بروز علائم اسهال در جوجه ها از هر پن دو جوجه کشتار و بخشی از نمونه ها جهت آزمایشات بافتی به آزمایشگاه بافت شناسی ارسال شدند. به منظور بررسی بافت روده در ۳ و ۷ روز بعد از بروز علائم اسهال در پرندگان از بافت های روده جوجه های انتخاب شده برای کشتار منظور بررسی اثر گروه های آزمایشی روی خصوصیات بافت شناسی آنها نمونه برداری می گردد. برای نمونه برداری ابتدا محتویات روده به آرامی تخلیه و سپس روده باریک بر اساس خصوصیات ظاهری به سه بخش دوازدهه، ژوژنوم (انتهای دوازدهه تا زائده مکل) و ایلئوم (از زائده مکل تا محل اتصال کیسه های کور) تفکیک خواهد شد. سپس از بخش های وسط تهی روده و ایلئوم نمونه هایی به طول ۵ سانتی متر جدا می گردد. نمونه های جدا شده با استفاده از محلول سرد سرم نمکی یک درصد شستشو و سپس در داخل بافر فرمالین خنثی ۱۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت تثبیت خواهد گردید. آماده سازی و تثبیت نمونه های بافتی مورد نظر بر اساس روش تصحیح شده تثبیت بافت کروس انجام خواهد شد. در مرحله بعد نمونه ها به طور مرحله ای توسط دستگاه پروسسینگ بافت در یک سری الکال با رقت های مختلف آبگیری و پس از شفاف سازی در زایلین (گزیلول) و آغشته سازی در پارافین در قالب های  $2/5 \times 3 \times 3$  سانتی متری قالب گیری می شوند (روش پوندیر، ۲۰۰۸). پس از تهیه برش ۵ میکرومتری، نمونه ها با روش هماتوکسیلین-انوزین (بهداری، ۱۹۹۶) رنگ آمیزی می گردند. بافت های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری دارای عدسی چشمی مدرج، مورد بررسی، و اندازه بخش های مختلف شامل ارتفاع پرز، عمق کریپت، پهنای بالا و پائین پرز تعیین می گردد.



آنالیز آماری به همراه اطلاعات طرح تا ۷ روزگی که چالنج میکروبی ندارند بصورت طرح کاملاً تصادفی آنالیز خواهد شد و بعد از چالنج میکروبی از روش فاکتوریل ۲×۴ با دو فاکتور چالنج و بدون چالنج با سطوح مکمل های مختلف استفاده خواهد شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (SAS Institute, 1990) با رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته شد.

## نتایج و بحث

جدول ۱- اثر نوع مکمل ضد میکروبی و اعمال درگیری با اکلاهی k99 بر مؤلفه های بافت شناسی

ارتفاع ویلی / کریپت	عمق کریپت	عرض ویلی	ارتفاع ویلی	
۹۴۲	۱۹۱	۳۰۰/۵	۸۴۶/۵	اکسی تتراسایکلین *
۶۱۲	۱۷۵	۱۹۶/۵	۵۲۴/۵	اکسی تتراسایکلین
۹۳۰/۷۵	۲۱۰/۵	۱۹۹/۵	۷۲۰/۲۵	پروبیوتیک *
۸۱۲	۲۱۸	۲۲۱/۵	۷۰۳	پروبیوتیک
۵۱۰/۷۵	۱۵۷	۱۲۱	۴۳۲/۲۵	شاهد *
۵۳۴/۵	۲۳۰/۵	۲۰۱	۴۱۹/۲۵	شاهد
۳۲۴/۷۵	۱۰۰	۳۳۷/۵	۵۴۹/۵	مکمل گیاهی *
۶۴۶/۲۵	۱۷۵/۵	۱۴۴/۵	۵۵۸/۵	مکمل گیاهی
۰/۳۳	۸/۶۷	۱۷/۸۶	۱۹/۳۶	SEM
<sup>c</sup> ./۰.۰۵۸	<sup>b</sup> ./۰.۳۰۸	۰/۱۲۴۸	<sup>a</sup> ./۰.۰۰۱	P VALUE

a-b-c نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف ها می باشد

SEM میانگین خطای استاندارد، مکمل های ضد میکروبی + شاهد

جدول ۱ نتایج مربوط به مصرف مکمل های ضد میکروبی نشان می دهد که مصرف مکمل پروبیوتیکی به صورت معنی داری در افزایش ارتفاع پرزه نقش داشته و همچنین تیمارهای اکسی تتراسایکلین و مکمل گیاهی به میزان بیش تری نسبت به گروه شاهد بر میزان عمق کریپت ها معنی دار بوده اند و کمتر نسبت به تیمار پروبیوتیک معنی دار نبوده اند. در تحقیق کریمی ترشیزی (۱۳۸۱)، استفاده از پروبیوتیک موجب افزایش معنی دار تعداد پرز در روده شد. همچنین موجب کاهش نسبی فراوانی پرزهای زبانی شکل و افزایش فراوانی نسبی پرزهای برگه شکل در مقایسه با شاهد گردید. گونال و همکاران (۲۰۰۶) اثر پروبیوتیک و آنتی بیوتیک و اسید آلی را بر عملکرد و مرفولوژی روده مورد بررسی قرار دادند. پروبیوتیک چند گونه مورد استفاده سبب افزایش ارتفاع پرز در ژوژنوم و ایلئوم نسبت به شاهد در ۲۱ و ۴۲ روزگی گردید. باکتریهای گرم

منفی در سکوم و ژوژنوم در ۲۱ و ۴۲ روزگی کاهش یافت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت تحت تاثیر تیمار قرار نگرفت.



منابع

- Wright GD. Something new: revisiting natural products in antibiotic drugdiscovery. *Can J Microbiol.* 2014;60(3):147 -154.[PubMed]
- Nazer MR. Antibiotic drugcontrol. <http://asremrooz.ir/prtja/8ev8uqeatz.fsfu.html>
- Sengupta S, Chattopadhyay MK, Grossart HP. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Front Microbiol.* 2013;4:47.
- S. L. Madsen, E. A. Wong; Expression of the chicken peptide transporter 1 and the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  following feed restriction and subsequent refeeding. *Poult Sci* 2011; 90 (10): 2295-2300. doi: 10.3382/ps.2010-01173.
- Townes CL, Michailidis G, Nile CJ, Hall J (2004) Induction of cationic chicken liver-expressed antimicrobial peptide 2 in response to *Salmonella enterica* infection. *Infect Immun* 72:6987–6993. doi:10.1128/IAI.72.12.6987-6993.2004



## Effect of antimicrobial supplements on small intestinal morphology in broiler chickens

Reza Majidzadeh Heravi<sup>1</sup>, Ali Javadmanesh<sup>2</sup>, Sajjad Hassanzade<sup>3\*</sup>

1. Assistant Professor, Department of Animal science, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

2. Assistant Professor, Department of Animal science, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

3. Msc student in Animal Sciences

\* Corresponding Author's Email: sajjad.hassanzade@.com

### Abstract

The purpose of this study was to investigate the changes of morphology components in the small intestine in male Ross 308 Broiler chickens. In order to estimate these changes, 400 Ross 308 chicks with an average weight of 35 g were analyzed in February 2017 at the Ferdowsi University of Mashhad Research Center for Livestock and Poultry Research. For this purpose, 3 antimicrobial supplements were used for the test. The results of the use of antimicrobial supplements indicate that probiotic supplementation significantly contributed to the increase in parietal altitude, and also the oxytetracycline and herbal supplementation were significantly higher than crypt depths compared to the control group And less than probiotics treatments.

**Keywords:** Antimicrobial supplements, Small intestinal morphology, Ross 308