

Julitta Gajewska*, Joanna Bucka*, Anna Żabik*, Julia Riedel,
Monika Michalczuk****

**WPŁYW NATURALNYCH PREPARATÓW ROŚLINNYCH NA STAN
MIKROFLORY JELITOWEJ BROJLERÓW KURZYCH**

**INFLUENCE OF NATURAL PHYTOGENIC PREPARATES ON STATE
OF CHICKEN BROILERS INTESTINAL MICROPHLORA**

Słowa kluczowe: preparaty fitogenne, Digestarom, X-tract, Orego-Stim, brojlery kurze, jelitowa mikroflora.

Key words: phytogenic preparates, Digestarom, X-tract, Orego-Stim, chicken broilers, intestinal microflora.

The aim of this work was investigation of the influence of the natural phytogenic preparates used in broilers breeding on quantitative and qualitative state of intestinal microflora of chicken broilers., from Wilanów – Obory farm, SGGW. The chickens, divided on 4 groups, fed with: 1) herbal Digestarom preparate (150 g·t⁻¹); 2) X-tract (Mexican paprika, cinamon, oregano – 100 g·t⁻¹); 3) Orego-Stim (oregano – 200 g·t⁻¹); 4) control (without addition). We observed good results of phytogenic preparates feeding: e.g. in chickens group received Digestarom preparate, the total number of Lactic Acid Bacteria, like Lactobacillus spp, was the highest, and coli/lacto index was very low (0.14), without a presence of pathogenic bacteria from Enterobacteriaceae, Staphylococcaceae and Clostridiaceae family, in all examined animals groups.

* *Dr Julitta Gajewska, mgr inż. Joanna Bucka, mgr inż. Anna Żabik – Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; tel.: 22 593 26 35; e-mail: gajewska3@wp.pl*

** *Dr Julia Riedel, dr Monika Michalczuk – Zakład Hodowli Drobiu, Wydział Nauk o Zwierzętach, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; tel.: 22 593 65 55; e-mail: julia_riedel@sggw.pl; monika_michalczuk@sggw.pl*

1. WPROWADZENIE

W związku z wprowadzeniem od 1 dnia stycznia 2006 r. w krajach Unii Europejskiej całkowitego zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu (ASP) jako dodatków paszowych w żywieniu zwierząt hodowlanych (kury, świnie), naturalną alternatywą antybiotyków stały się probiotyki, prebiotyki i synbiotyki [Gajewska i Mierzejewski 2005; Rekiel i in. 2005, 2006; Koreleski i Świątkowski 2006]. Taką alternatywę stanowią również preparaty w postaci ziół, przypraw, wyciągów roślinnych i olejków eterycznych [Gajewska i in. 2002; Michalczuk i in. 2003; Pietrzak i in. 2005; Jamroz i in. 2006], szczególnie ze względu na ich właściwości biocydowe [Gajewska i in. 2003; Kamel i McKay 2005; Lessie i Etienne 2007]. Zastosowanie ich, np. w żywieniu brojlerów, ma wpływ na skład naturalnej mikroflory występującej u zdrowych ptaków, który według Majewskiej [2006] jest następujący: *Enterococcus faecium* – 54%; *Lactobacillus acidophilus* 12%; *Escherichia coli* –1%; inne (*Proteus* sp., *Streptococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Clostridium* sp., grzyby mikroskopowe) – 33%. Dodatkowo należy podkreślić, że składniki preparatów roślinnych, takie jak: karwakol, tymol i aldehyd cynamonowy otrzymały miano GRAS (Generalny Recognized as Safe), nadane przez Stowarzyszenie Producentów Przypraw i Wyciągów (Flavor and Extract Manufacturers' Association) oraz Administrację Żywności i Leków (Food and Drug Administration), sugerujące, że ich użycie jest bezpieczne.

2. CEL, MATERIAŁY I METODY BADAŃ

Celem pracy było zbadanie wpływu roślinnych mieszanek żywieniowych w postaci ziół i przypraw, jako alternatywy dla antybiotyków paszowych, na ilościowy i jakościowy skład mikroflory jelitowej brojlerów kurzych.

Doświadczeniem objęto 800 kurcząt brojlerów Ross 308 w Fermie Doświadczalnej SGGW, Wilanów – Obory. Zwierzęta zostały podzielone w sposób losowy na 4 grupy po 200 kurcząt, które były utrzymywane w tym samym pomieszczeniu na ściółce, zgodnie z normami, zalecanymi przez firmę Ross. Wartość odżywcza stosowanych w żywieniu mieszanek była typowa dla brojlerów: 21% białka ogólnego i 12,2 MJ energii metabolicznej w Starterze oraz 19% białka ogólnego i 12,5 MJ energii metabolicznej w Growerze i Finiszarze. Czynnikiem różnicującym grupy była zawartość w mieszance Starter i Grower różnych preparatów stymulujących wzrost kurcząt. W mieszance Finiszar nie stosowano żadnych dodatków.

W tabeli 1 przedstawiono układ doświadczalny. Grupa I otrzymywała preparat Digestarom; grupa II – mieszankę X-tract; grupa III – mieszankę Orego-Stim; grupa IV (kontrola) nie otrzymywała mieszanek roślinnych.

Tabela 1. Układ doświadczalny**Table 1.** The scheme of an experience

Grupa	IV	I	II	III
Preparat	Kontrola bez dodatków	Digestarom 1317 – preparat roślinny, zawierający mieszankę ziół i przypraw, firmy Micro-plus Koncentrate GmbH	X-tract , firmy AXIS o składzie: papryka meksykańska, cynamon, oregano	Orego-Stim , firmy Meriden \ oregano
Dawka g·t ⁻¹	–	150	100	200

W stadzie kontrolowano wyniki produkcyjne. Kurczęta ważono przy zmianie mieszanki, tj. w 18 i 36 dniu odchowu oraz na koniec produkcji – w 42 dniu. Obliczono zużycie paszy na kilogram przyrostu masy ciała oraz procent upadków. W 42 dniu ubito z każdej grupy po 5 kogutów i 5 kur o masie zbliżonej do średniej w danej grupie, a następnie wykonano dysekcję. Od ubitych kurcząt pobrano próbki treści jelita cienkiego, które poddano badaniom mikrobiologicznym w kierunku wybranych grup drobnoustrojów (ogółem przebadano 36 próbek).

Jakościowe i ilościowe badania mikrobiologiczne obejmowały oznaczenia następujących wskaźników:

- bakterie heterotroficzne amonifikacyjne – agar odżywczy bez/z z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej (37°C);
- bakterie (lac+ i lac-) z rodziny *Enterobacteriaceae* – podłoże według McConkey'a (37°C);
- bakterie z rodzaju *Pseudomonas* – podłoże według Kinga B (28°C);
- mikroskopowe grzyby strzępkowe i drożdże – podłoże według Martina i Sabouraud'a z dodatkiem streptomycyny (28°C);
- pałeczki fermentacji mlekowej z rodz. *Lactobacillus* – podłoże stałe według Eijkmana z glukozą, laktozą i purpurą bromokrezolową oraz podłoże Sabouraud'a (bez antybiotyków) (37°C);
- bakterie z *Clostridium perfringens* redukujące siarczyny – pożywka płynna i stała według Wilsona – Blair'a (37°C).

Liczebności bakterii oznaczano metodą płytkową oraz probówkową – NPL (Najbardziej Prawdopodobna Liczba).

W ramach badań jakościowych wykonano identyfikację wybranych drobnoustrojów, na podstawie obserwacji makroskopowych hodowli płynnych i stałych oraz mikroskopowych preparatów przyżyciowych w kropli płaskiej, barwionych metodą Grama oraz barwionych oranżem akrydynowym, prowadzono przy użyciu superbadawczego mikroskopu fluorescencyjnego Nikon sprzężonego z kamerą Nikon, uzyskując dokumentację zdjęciową. Profile fizjologiczne wybranych izolatów bakteryjnych otrzymywano na podstawie testów Api firmy bioMerieux z komputerową analizą.

Prowadzono również badania treści jelita cienkiego w kierunku lac+ i lac- bakterii z rodzaju *Salmonella* oraz *Staphylococcus* sp. Identyfikację bakterii wykonywano również opierając się na systematyce według Bergey'a [1974].

3. WYNIKI I DYSKUSJA

Niewykształcony jeszcze układ trawienny świeżo wyklutych brojlerów oraz znajdująca się w nim mikroflora często nie są w stanie skutecznie walczyć z organizmami patogennymi, ponieważ takie bakterie jak *Salmonella* spp. czy *Clostridium* spp. mają znacznie krótszy czas rozmnażania się niż bakterie naturalnej mikroflory, takie jak *Lactobacillus acidophilus* [Plavnik 2006]. Dlatego szczególnie ważny staje się dobór ziół i przypraw, a także metody uzyskania ekstraktów, zawierających zmienny skład jakościowy i ilościowy składników aktywnych o działaniu biocydowym w stosunku do patogenów jelitowych, a które jednocześnie nie będą wpływać hamująco na liczebność bakterii fermentacji mlekowej.

Wyniki badań zootechnicznych, publikowanych wcześniej przez Niemca i in. [2006], wydają się być obiecujące. U wszystkich grup zwierząt, gdzie stosowano preparaty, stwierdzono większą masę ciała w grupie kontrolnej. Najwyższy przyrost masy brojlerów uzyskano po zastosowaniu preparatu Digestarom. W każdej z grup, w której stosowano preparaty, wykazano mniejszą śmiertelność w stosunku do grupy kontrolnej. W 18 i 36 dniu chowu największe przyrosty masy ciała brojlerów zaobserwowano w grupie, która otrzymywała preparat Orego-Stim, jednocześnie w ostatnim, 42 dniu chowu, największe przyrosty masy osiągnięto w grupie otrzymującej preparat X-tract. Stwierdzono, że procent śmiertelności zwierząt w grupie, gdzie stosowano preparat Digestarom wynosił 3,5%, a w grupie kontrolnej był wyższy i wynosił 5% [Niemiec i in. 2006].

Prezentowane wyniki badań mikrobiologicznych dotyczyły oceny skuteczności trzech dodatków paszowych w żywieniu brojlerów kurzych. Wyniki oparte na ilościowej analizie mikrobiologicznej mikroflory jelita cienkiego 42-dniowych kurcząt, przedstawiono w tabeli 2 i tabeli 3.

Na podstawie wyników badań, przedstawionych w tabeli 2 stwierdzono, że w treści jelita cienkiego brojlerów kurzych z grupy żywionej paszą z dodatkiem preparatu Digestarom ogólna liczebność tlenowych mezofilnych bakterii heterotroficznych, wyrosłych na podłożu agar odżywczy, była najwyższa spośród liczebności tych bakterii we wszystkich grupach zwierząt ($8,2 \times 10^5$ jtkg⁻¹). Nie stwierdzono obecności beta hemolitycznych bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w treści jelita cienkiego. Ponadto w grupie zwierząt otrzymujących Digestarom zaobserwowano zmniejszenie liczebności bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, wyrosłych na podłożu McConkey'a, w porównaniu do liczebności w grupie kontrolnej. Przy zastosowaniu podłoża Sabouraud'a oraz Eijkmana do hodowli bakterii fermentacji mlekowej wykazano, że liczebność tych bakterii w grupie zwierząt otrzymujących Digestarom była porównywalna z wartościami uzyskanymi w grupie kontrolnej.

Tabela 2. Ogólna liczebność bakterii heterotroficznych tlenowych, wyrosłych na podłożu agar odżywczy, obecnych w treści jelita cienkiego brojlerów kurzych żywionych paszą z dodatkiem preparatów roślinnych

Table 2. The total number of the heterotrophic anaerobic bacteria growed on a nutrient agar medium, present in a small intestine content of chicken broilers, fed with the phytogetic preparates as feed additives

Preparat	Ogólna liczebność jtk mikroorganizmów w 1 g s.m. treści jelita, wyrosłych na podłożu				
	bakterie				grzyby strzępkowe i drożdże
	Sabouraud	Eijkman	Agar odż. z dodatkiem krwi baraniej	McConkey	Martin
Digestarom	$3,9 \times 10^5$	$2,9 \times 10^5$	$8,2 \times 10^5$	$5,5 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^2$
X-tract	$7,4 \times 10^3$	$5,3 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$	$1,8 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$
Orego-Stim	$6, \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$1,9 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$
Kontrola	$1,3 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^2$

Tabela 3. Oznaczenie wskaźnika coli/lacto określony na podstawie liczebności bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz bakterii grupy LAF, występujących w treści jelita cienkiego brojlerów kurzych żywionych paszą z dodatkiem preparatów fitogennych

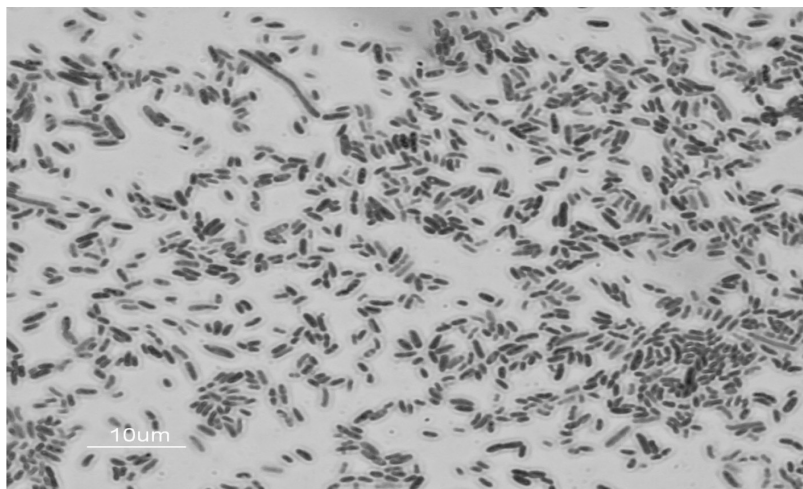
Table 3. Determination of coli/lacto index calculating on basis of the total number of bacteria from *Enterobacteriaceae* family and group LAF bacteria, present in a small intestine content of chicken broilers fed with the phytogetic preparates as feed additives

Preparat	Współczynnik coli/lacto
Digestarom	0,14
X-tract	0,24
Orego-Stim	0,12
Kontrola	1,39

Przy użyciu podłoża Sabouraud'a, na którym rosły bakterie fermentacji mlekowej, głównie z rodzaju *Lactobacillus*, stwierdzono największy wzrost liczebności tych bakterii w grupie I, gdzie stosowany był roślinny preparat Digestarom, zawierający zioła i przyprawy, a następnie w grupie II, gdzie stosowany był preparat X-tract, zawierający przyprawy (papryka meksykańska, cynamon i oregano), a następnie preparat Orego-Stim (oregano), w porównaniu z grupą kontrolną.

Porównując cechy morfologiczne do cech fizjologicznych na podstawie dokumentacji zdjęciowej (przy użyciu mikroskopu Nikon E600 z kamerą) oraz cechy fizjologiczne i biochemiczne (Api testy CHL, według programu komputerowego Api LAB, firmy bioMerieux) charakterystyczne dla poszczególnych izolatów wyrosłych na podłożu APT, Saboraud'a i Eijkmana zidentyfikowano bakterie grupy LaF (Lactic Acid Fermentation) jako *Lactobacillus acidophilus* (fot. 1).

Stosując podłoże według Martina dla drożdży i grzybów strzępkowych we wszystkich grupach (I–IV), stwierdzono niską ich liczebność, poniżej 10^2 jt•kg⁻¹•sm⁻¹ treści jelita cienkiego.



Fot. 1. Bakterie *Lactobacillus acidophilus* z podłoża APT po 72 godzinach hodowli; pow. 1100x
Phot. 1. *Lactobacillus acidophilus* bacteria isolated on APT medium after 72 hours of incubation; 1100x increase

Nie stwierdzono obecności bakterii chorobotwórczych z rodzaju *Salmonella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Clostridium perfringens* oraz beta hemolitycznych bakterii *Escherichia coli* we wszystkich badanych próbkach treści jelita cienkiego brojlerów kurzych.

Zaobserwowano, że w wyniku zastosowania w żywieniu drobiu fitogenicznego preparatu Digestarom (tab. 3) uzyskano korzystną, najniższą wartość wskaźnika coli/lacto, wyliczoną na podstawie stosunku ogólnej liczebności bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* do liczebności bakterii grupy LAF. W grupie I, brojlerów otrzymujących Digestarom, wartość wskaźnika coli/lacto wynosiła 0,14, w grupie II, brojlerów otrzymujących preparat X-tract, wartość ta była blisko dwukrotnie wyższa i wynosiła 0,24. Bardzo korzystnie przedstawiała się wartość wskaźnika coli/lacto w III grupie brojlerów, żywionych paszą z dodatkiem preparatu Orego-Stim, wartość wskaźnika coli/lacto wynosiła 0,12. Wartość wskaźnika coli/lacto dla grupy IV (kontrola) wynosiła 1,19; była największa i najmniej korzystna w porównaniu z uzyskanymi wartościami wskaźników wyliczonych dla zwierząt badanych grup doświadczalnych.

Uzyskane wyniki świadczyły o pozytywnym działaniu wszystkich zastosowanych preparatów roślinnych jako dodatków paszowych w żywieniu brojlerów kurzych na jakościowy i ilościowy skład ich mikroflory jelitowej, co w konsekwencji mogło mieć pozytywny wpływ na ich dobrą kondycję zdrowotną. Najbardziej korzystne działanie na stan mikroflory jelita cienkiego stwierdzono w odniesieniu do preparatu Digestarom.

Po wycofaniu z użycia antybiotykowych stymulatorów wzrostu częstym problemem, z jakim spotykają się hodowcy drobiu, jest występowanie wśród młodych ptaków biegunki. Dlatego stosowanie naturalnych preparatów roślinnych o działaniu biocydowym i korzystnie wpływających na stan mikroflory jelitowej oraz zdrowie zwierząt, w konsekwencji pozytywnie oddziałując na środowisko, staje się aktualnie bardzo ważnym i właściwym postępowaniem w żywieniu drobiu.

4. WNIOSKI

1. Stwierdzono korzystny wpływ preparatów roślinnych na skład i liczebność mikroflory jelita cienkiego kurcząt, zastosowanych w żywieniu brojlerów kurzych w następującej kolejności: Digestarom i X-tract > Oregano – Stim.
2. Na podstawie przeprowadzonych badań udowodniono, że aby zapewnić zwierzętom prawidłowy wzrost i rozwój oraz utrzymać je w dobrej kondycji zdrowotnej, należy podawać im w paszy dodatek ziół i przypraw, w postaci takich preparatów jak Digesterom i X-tract.
3. Zastosowanie fitogenicznych dodatków paszowych nie spowodowało pojawienia się w jelicie cienkim bakterii chorobotwórczych, a było przyczyną pojawienia się korzystnej wartości wskaźnika coli/lacto, wynoszący 0,19 w wyniku stosowania preparatu Digestarom lub 0,12 przy stosowaniu preparatu X-tract, tj. około 10-krotnie mniejszych niż wartości tego wskaźnika w grupie kontrolnej.

PIŚMIENNICTWO

- BUCHANAN R.E, GIBBONS N.E. 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, Eight Edition, Part 16, Gram-Positive, Asporogenous, Rod-Shaped Bacteria, The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- GAJEWSKA J., MIERZEJEWSKI D. 2005. Wpływ działania bakterii potencjalnie probiotycznych i chemioterapeutyków na wzrost patogennych bakterii izolowanych od świń. W: *Obieg pierwiastków w przyrodzie. Bioakumulacja–Toksyczność–Przeciwdziałanie–Integracja Europejska*. Wyd. Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa 3, 25: 559–604.
- GAJEWSKA J., GAZDA M., GORCZYŃSKA K. 2003. Oznaczenie wrażliwości wybranych szczepów bakterii i grzybów na wyciągi przypraw i ziół. W: *Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych*. Wyd. Politechnika Łódzka, Łódź: 318–321.
- GAJEWSKA J., REKOSZ-BURLAGA H., NIEMIEC J. 2000. Effect of addition of „Greenline” preparations to feed mixtures for broilers on the composition of their intestinal microflora. *Acta Microbiol. Pol.* 51 (1): 71–78.
- HARRIS S. 2005. Orego-Stim for prophylactic use in intensive livestock farming. *The National Non-Food Crops Center* 34 (2): 1–10.

- KAMEL C., MCKAY R. 2002. Plant extracts enhance performance in broilers in *Clostridium perfringens* challenge J. Anim. Science 81 (1): 203–204.
- KORELESKI J., ŚWIĄTKOWSKI S. 2006. Zakaz stosowania antybiotyków paszowych – co dalej? Biuletyn PZPP 45: 22–29.
- LESSIE M., ETIENNE M. 2007. Przełom w naturalnych bioaktywnych produktach stosowanych jako dodatki paszowe w produkcji drobiu i trzody chlewnej jako alternatywa dla antybiotyków. Biuletyn PZPP, 2, 19–24.
- MAJEWSKA T. 2006. Drobiarstwo niekonwencjonalne, Oficyna Wydawnicza „Hoża”, Warszawa.
- MICHALCZUK M., NIEMIEC J., DĘBEK J. 2003. Wpływ wybranych zamienników antybiotykowych stymulatorów wzrostu na wyniki odchowu kurcząt brojlerów. Zesz. Nauk. Przegl. Hod. 68 (4): 119–124.
- NIEMIEC J., RIEDEL J., STĘPIŃSKA M., BORUTA A., STANISŁAWSKI P. 2006. Effect of the selected replacers of antibiotic growth stimulators on the results of rearing of broiler chickens, XVIII International Poultry Symposium PB WPSA, Science for poultry practice – poultry practice for science” Rogów, 4–6 September 2006.
- Orego-Stim: Positive impact on poultry production systems world wide.** 2000. World Poultry. www.ecopharm.se/info/homepage/World-Poultry-Article-2000.doc
- PIETRZAK D., MROCZEK J., ANTOLIK A., MICHALCZUK M., NIEMIEC J. 2005. Influence of growth stimulators added to feed on the quality of meat and fat in broiler chickens. Med. Wet. 61 (5): 553–557.
- REKIEL A., GAJEWSKA J., WIĘCEK J., MISZCZYK A. 2005. Effect of addition of feed antibiotic or probiotic on production results and intestinal mikroflora of fatteners. Electronic J. Agri. Univ. Animal Husbandry 8, 4.
- REKIEL A., GAJEWSKA J. 2006. Zmiany mikroflory jelitowej tuczników pod wpływem wybranych czynników żywieniowych. Med. Wet. 62 (8): 925–930.
- X-tract – najlepszy produkt firmy AXISS.** Broszura producenta.