



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet11520
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 57.083.1:611.34:577.115:636.5

Biodiversity of microorganisms in the duodenum of broiler chickens under the influence of short-chain fatty acids and monoglycerides

L. M. Tamchuk, D. M. Masiuk✉

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 04.07.2024

Received in revised form

05.08.2024

Accepted 06.08.2024

Dnipro State Agrarian and
Economic University, Serhiya
Yefremova Str., 25, Dnipro,
49000, Ukraine.
Tel.: +38-050-636-62-37
E-mail: dimasiuk@gmail.com

Tamchuk, L. M., & Masiuk, D. M. (2024). Biodiversity of microorganisms in the duodenum of broiler chickens under the influence of short-chain fatty acids and monoglycerides. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 140–144. doi: 10.32718/nvlvet11520

The clear understanding of the taxa composition of the intestinal bacterial community will allow beneficial manipulation of the gut flora to improve gut health and broiler productivity. However, the integrative impact of short chain fatty acids and monoglycerides (SCFA-M) on the microbiota biodiversity of the duodenum in broiler chickens has been overlooked by researchers, which underpins the relevance of our study. The study was conducted on Cobb 500 broiler chickens under industrial poultry farm conditions. The broilers in the experimental group were given the IP. Enterin C3 – C10 formulation (in a dose of 1.5 L/30 L of 1 % water) supplemented via drinking water. PCR results revealed only genetic material related to *Escherichia coli* in the duodenum of the broiler chickens. No evidence for colonization of *Clostridium perfringens* or other microorganisms from the *Eimeria* sp. family were found. The bacterial presence of *Eimeria acervulina* in the duodenum was established on 27 and 34 days of life, that is evidence of the coccidiosis progression in the poultry. In 29-day-old broilers in the control group, the extent of duodenal colonization by *E. acervulina* was 67 % with an intensity of $2.17 \times 10^5 \pm 3.21 \times 10^4$ g-e. The extent of colonization was the similar for both 29-th and 36-th days of life. However, the intensity of colonization was decreased to $1.41 \times 10^7 \pm 8.48 \times 10^6$ g-e. level. The extent of colonization decreased to 33% as well as the intensity decline was equal 3.37×10^5 g-e. The supplementation of SCFA-M induced the extent of duodenal colonization by *E. acervulina* about 17% decline in 29-day-old broilers in the experimental group. However, the rate of colonization intensity was significantly higher and equal $9.6 \times 10^6 \pm 4.7 \times 10^5$ g-e. The extent of colonization was increased to 100%, while the colonization intensity growth was rise to $2.9 \times 10^8 \pm 1.5 \times 10^7$ g-e. Contrary, there was no observed the genetic material of *E. acervulina* in the experimental group on 45-th day of life. Obtained data evidence that C3 – C10 formulation can be applied to manipulate microbiome community. Future research prospects include developing a SCFA-M administration scheme for broiler chickens to replace or minimize the use of antibacterial drugs in poultry farming.

Key words: broiler chickens, duodenum, SCFA-M, microbiome, biodiversity.

Біорізноманіття мікроорганізмів у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів за дії коротко ланцюгових жирних кислот та моногліцеридів

Л. М. Тамчук, Д. М. Масюк✉

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Детальне розуміння таксономічного складу бактеріальної спільноти дозволить маніпулювати кишковою флорою для покращення здоров'я кишечника та продуктивності бройлерів. Однак, питання стосовно комплексного впливу коротко ланцюгових жирних кислот та моногліцеридів органічних кислот (КЖК-М) на біорізноманіття мікробіому дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів залишаються нерозкритими, що обумовлює актуальність таких досліджень в умовах обмеження використання антибіотиків. Дослід проведений на курчатах-бройлерах кросу Cobb 500 в умовах промислової птахофабрики. Курчатам дослідної групи з водою випоювали препарат IP. Enterin C-3 – C-10 (у дозі 1,5 л /30 л води 1 %). За результатами ПЛР-досліджень у дванадцятипа-

лій кишці курчат-бройлерів виявлено переважно генетичний матеріал *E. acervulina*. Ознак колонізації кишечника бактеріями *Clostridium perfringens* та іншими видами мікроорганізмів з родини *Eimeria* sp. не виявлено. Визначений вміст *Eimeria acervulina* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів на 27 та 34 добу життя вказує на активізацію кокцидіозу у промислової птиці. Екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* була 67% при інтенсивності колонізації $2,17 \times 10^5 \pm 3,21 \times 10^4$ г.-е. у 29-добових курчат-бройлерів контрольної групи. Екстенсивність колонізації з 29-ї до 36-ї доби життя курчат була однаковою, однак інтенсивність колонізації спадала на $1,41 \times 10^7 \pm 8,48 \times 10^6$ г.-е. за цей період. До 45-ї доби життя курчат відбулось зменшення екстенсивності колонізації до 33% та інтенсивності колонізації до $3,37 \times 10^5$ г.-е. За дії КЖК-М у 29-добових курчат-бройлерів дослідної групи екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* була меншою на 17% при значно більшій інтенсивності колонізації $9,6 \times 10^6 \pm 4,7 \times 10^5$ г.-е. З 29-ї до 36-ї доби життя курчат екстенсивність колонізації підвищується до 100% , а інтенсивності колонізації становить $2,9 \times 10^8 \pm 1,5 \times 10^7$ г.-е. Однак, у складі мікробіому 45-добових курчат дослідної генетичний матеріал *E. acervulina* не був виявлений. Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні схеми задавання КЖК-М курчатам-бройлерам, які замінять, або мінімізують застосування антибактеріальних препаратів у птахівництві.

Ключові слова: курчата-бройлери, дванадцятипала кишка, КЖК-М, мікробіом, біорізноманіття.

Вступ

Сучасні дослідження використовують технології секвенування для характеристики мікробних спільнот, що колонізують травний тракт курей, та для відстеження розвитку цих спільнот у ході вирощування (Glendinning et al., 2019). Відомо, що мікробіота впливає на розвиток і функціональну спроможність кишечника господаря. У свою чергу, здоровий кишечник є критичною складовою росту, продуктивності та загального стану здоров'я птахів. Різні фактори, такі як дієта та вік птиці, мають значний вплив на різноманітність і склад мікробіому курчат, який виявляє зростання біорізноманіття з віком (Rychlik, 2020). Кожен відділ травного тракту має власні функціональні особливості та унікальне мікробне біорізноманіття, яке динамічно змінюється в залежності від породи, віку, лінії, складу дієти та умов навколишнього середовища. Сприятливий вплив кишкової мікробіоти на фізіологічні, метаболічні, імунологічні функції, травлення та засвоєння поживних речовин у господаря був продемонстрований в останні роки (Shang et al., 2018). Молекулярні підходи, що включають вивчення структури бактеріальних спільнот шляхом аналізу мікробної ДНК, допомогли значно розширити наші уявлення про стан мікробіому у тварин (Fathima et al., 2022). Краще розуміння таксономічного складу бактеріального співтовариства дозволить маніпулювати кишковою флорою для покращення здоров'я кишечника та продуктивності курей (Al-Marzooqi, 2022).

На сьогодні актуальною проблемою птахівництва є заміна антимікробних засобів на безпечні аналоги із збереженням достатньої ефективності щодо патогенів і безпечності для здоров'я птахів (Abdelli et al., 2021). Одним з найбільш перспективних засобів пригнічення патогенів є комбіноване використання коротко ланцюгових жирних кислот та моногліцеридів органічних кислот (КЖК-М) (Masiuk et al., 2024).

Мета дослідження

Враховуючи вищезазначені виклики, метою представленого дослідження було встановлення ефектів фракціонованого випоювання КЖК-М курчатам-бройлерам протягом технологічного циклу на біорізноманіття їх дванадцятипалої кишки.

Матеріал і методи досліджень

Робота проведена на курчатах-бройлерах кросу Cobb 500 в умовах промислової птахофабрики. Для проведення дослідження було сформовано 2 групи курчат добового віку – дослідна (55000 курчат) та контрольна (36000 курчат), які знаходились в окремих ідентичних пташниках. Щільність посадки в контрольній та дослідній групах була однаковою і складала в середньому 21 курча/м². Контрольну групу бройлерів вирощували за стандартним протоколом підприємства. Вирощування птиці відбувалось за сучасними технологіями впровадженими на підприємстві з урахуванням та дотриманням основних вимог біологічної безпеки, що впроваджено на виробництві у вигляді відповідних робочих інструкцій по дотриманню ветеринарно-санітарних правил. Птиці дослідної групи на 16–18-, 22–29-, 32–37-у добу життя з водою випоювали препарат IP. Enterin C3 – C10 (у дозі 1,5л /30л води 1 %). Склад суміші: моногліцериди – 46 %, ди-гліцериди – 23 %, тригліцериди 2 %, вільний гліцерин – 21 %. Кислоти етерифіковані гліцерином – C3 – пропіонова, C4 – масляна, C8-C10 – каприлова і капринова кислоти. Для дослідження кишкового мікробіому у 16, 22, 29, 36 і 45 денному віці відбирали по 6 курчат-бройлерів. Від курчат відбирали зразки тканини дванадцятипалої кишки та зразки вмісту тонкого кишечника після евтаназії. Екстракцію нуклеїнових кислот з відібраних зразків проводили у декілька етапів. Спочатку біологічний матеріал поміщали у пробірку до якої додавали лізуючий буферний розчин ATL Buffer® (Biosellal, Франція) та кварцеві кульки. Пробірку поміщали у ротор гомогенізатору FastPrep-24, де відбувалась гомогенізація досліджуваних мазків. З отриманого гомогенату відбирали по 200 мкл, з якого екстрагували нуклеїнові кислоти (НК) за допомогою комерційного комплексу реактивів “BioExtract Premium Mag” на приладі для автоматичної екстракції нуклеїнових кислот “KingFisher Duo”. У екстрактах НК визначали наявність та розраховували кількість ДНК *Cl. perfringens*, *C. coli*, *C. jejuni*, *E. acervulina*, *E. praecox*, *E. mitis*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. brunetti* та *E. tenella* за допомогою діагностичних тест-наборів виробництва Echorol (Іспанія). Ампліфікацію і детекцію результатів проводили на приладі “CFX 96” (BioRad, США). Схему термічних циклів обирали і проводили згідно настанов відповідних діагностичних тест-наборів. Усі зразки аналізували у технічній триразовій повторності, включаючи відповідні негативні

контролі (дистильована вода без ДНКаз/РНКаз). Межі чутливості виявлення застосованих ПЛР-тестів складала 10–100 копій ДНК проведеними трьома незалежними тестуваннями. Для перевірки лінійності та динамічного діапазону ПЛР криві стандартного зразку були побудовані шляхом 10-кратних серійних розведень позитивних контрольних зразків з відомою кількістю копій. Результати ПЛР обраховували та аналізували за допомогою програмного забезпечення “CFX Manager”, а ефективність ампліфікації (E) оцінювали за формулою $E = (10^{-1/\text{нахил}}) - 1$.

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення GraphPad Prism 10. Вибіркові параметри, представлені в роботі, мали такі позначення: M – вибіркове середнє; SD – стандартне відхилення. Зміни показників вважали достовірними за $P < 0,05$ (у тому числі $P < 0,01$ і $P < 0,001$).

Всі процедури з птицею проводили з дотриманням вимог наведених у Законі України № 3447-IV від 21.02.06 р. “Про захист тварин від жорстокого пово-

дження”, узгоджені з основними принципами “Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1986), та затверджені комісією з біоетики експериментів на тваринах Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Результати

Біорізноманіття мікроорганізмів у вмісті кишечника курчат бройлерів визначали для виявлення ефектів кормової добавки на модуляцію корисних таксонів та патогенів. За результатами ПЛР-досліджень у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів, як контрольної так і дослідної групи, виявлено переважно генетичний матеріал *E. acervulina*. Ознак колонізації кишечника бактеріями *Cl. perfringens* та іншими видами мікроорганізмів з родини *Eimeria sp.* не виявлено, на що вказує негативний результат ПЛР за цільовими генами, специфічними до відповідних мікроорганізмів (табл. 1).

Таблиця 1

Наявність генетичного матеріалу мікроорганізмів у вмісті дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів

Групи тварин	Мікроорганізми									
	<i>Cl. perfringens</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>E. acervulina</i>	<i>E. praecox</i>	<i>E. mitis</i>	<i>E. maxima</i>	<i>E. necatrix</i>	<i>E. brunetti</i>	<i>E. tenella</i>
Контрольна	НВ	НВ	НВ	В	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
Дослідна	НВ	НВ	НВ	В	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ

Примітка: НВ – генетичний матеріал не виявлено; В – генетичний матеріал виявлено.

Результати дослідження генетичного матеріалу *Campylobacter coli* у вмісті дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів різних вікових груп вказують на відсутність ознак колонізації, про що свідчить негативний результат ПЛР-аналізу (табл. 2). Поряд з цим генетичного матеріалу *C. jejuni* за результатами ПЛР-дослідження дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів контрольної та дослідної груп також не встановлено, що свідчить про відсутність ознак колонізації (табл. 3).

Поряд з цим, результати дослідження щодо бактеріального навантаження *E. acervulina* вказують на відсутність цих мікроорганізмів у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів 16-ти та 22-ти добового віку (табл. 4).

Однак, уже на 27 та 34 доби життя у вмісті дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів контрольної і дослідної груп виявлено наявність ДНК *E. acervulina*, що вказує на активізацію у птиці кокцидіозу.

Екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* у 29-добових курчат-бройлерів контрольної групи сягає 67% при інтенсивності колонізації $2,17 \times 10^5 \pm 3,21 \times 10^4$ г.-е. Хоча, екстенсивність колонізації до 36-ї доби життя курчат не змінюється, встановлено збільшення інтенсивності колонізації до $1,41 \times 10^7 \pm 8,48 \times 10^6$ г.-е. Надалі, до 45-ї доби життя курчат контрольної групи відбувається зменшення екстенсивності колонізації до 33 % та інтенсивності колонізації до $3,37 \times 10^5$ г.-е.

Таблиця 2

Представництво та рівень бактеріального навантаження *Campylobacter coli* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів ($M \pm m$, $n = 6$)

Вік птиці, діб	Контрольна група		Дослідна група	
	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.
16	0	НВ	0	НВ
22	0	НВ	0	НВ
29	0	НВ	0	НВ
36	0	НВ	0	НВ
45	0	НВ	0	НВ

Примітка: НВ – генетичний матеріал *Campylobacter coli* не виявлено

Таблиця 3

Представництво та рівень бактеріального навантаження *Campylobacter jejuni* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів ($M \pm m$, $n = 6$)

Вік птиці, діб	Дванадцятипала кишка			
	Контрольна група		Дослідна група	
	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.
16	0	НВ	0	НВ
22	0	НВ	0	НВ
29	0	НВ	0	НВ
36	0	НВ	0	НВ
45	0	НВ	0	НВ

Примітка: НВ – генетичний матеріал *Campylobacter jejuni* не виявлено

Таблиця 4

Представництво та рівень бактеріального навантаження *Eimeria acervulina* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів ($M \pm m$, $n = 6$)

Вік птиці, діб	Контрольна група		Дослідна група	
	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.
16	0	НВ	0	НВ
22	0	НВ	0	НВ
29	67	$2,17 \times 10^5 \pm 3,21 \times 10^4$	50	$9,62 \times 10^6 \pm 4,69 \times 10^5$
36	67	$1,41 \times 10^7 \pm 8,48 \times 10^6$	100	$2,91 \times 10^8 \pm 1,47 \times 10^7$
45	33	$3,37 \times 10^5$	0	НВ

Примітка: НВ – генетичний матеріал *Eimeria acervulina* не виявлено

Екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* у 29-добових курчат-бройлерів дослідної групи була меншою на 17 % при значно більшій інтенсивності колонізації $9,6 \times 10^6 \pm 4,7 \times 10^5$ г.-е. Надалі до 36-ї доби життя курчат екстенсивність колонізації становить 100 %, а інтенсивності колонізації становить $2,91 \times 10^8 \pm 1,5 \times 10^7$ г.-е. Однак, уже у 45-добових курчат дослідної генетичний матеріал *Eimeria acervulina* не виявлено.

Обговорення

Отримані нами результати узгоджуються з наявними даними стосовно здатності КЖК-М модулювати мікробіом кишечника птиці, сприяє росту здорових бактерій і допомагаючи зменшити відносну кількість патогенних бактерій (Li et al., 2022). Маніпуляція мікробіомної спільноти давно використовується у птахівництві для збільшення темпів росту та конверсії корму, покращення здоров'я кишечника та зменшення тягаря патогенів і, зокрема, зменшення навантаження харчових зоонозних патогенів (Wigley, 2015). Результати дослідження щодо бактеріального навантаження *E. acervulina* вказують на наявність цих мікроорганізмів у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів з 29-ї доби життя, що вказує на прояви кокцидіозу. Сьогодні основною стратегією профілактики кокцидіозу у птахівництві є застосування кокцидіостатиків або вакцинація проти кокцидіозу (Rysman et al., 2023). Однак, ефективність цих методів може бути обмеженою через виникнення резистентності або інших факторів (de Andrade et al., 2022). Тому важливо вивчати нові методи лікування та профілактики кокцидіозу. Слід відмітити, що споживання КЖК-М групою 29-добових кур-

чат-бройлерів модулювала екстенсивність колонізації *E. acervulina*, яка була меншою на 17 % при більшій інтенсивності колонізації. Поряд з цим, генетичний матеріал *Eimeria acervulina* у 45-добових курчат дослідної групи не було виявлено.

Результати проведеного нами дослідження підтверджують наявні дані стосовно того, що моногліцериди із середнім ланцюгом виявляють антимікробну дію, сприяють підтримці інтестинальної функції і розглядаються як перспективний засіб для вирішення питань розробки ефективних антимікробних стратегій (Jackman et al., 2022). На додаток, отримані результати узгоджуються з недавно представленими в літературі даними про застосування суміші моногліцеридів в якості кормової добавки, що сприяло зниженню рівню смертності (Gharib-Naseri et al., 2021). Найбільш вагомим результатом проведеного дослідження є потенціальна спроможність суміші жирних кислот і моногліцеридів пригнічувати проліферацію патогенів, що також співвідноситься з результатами стосовно динаміки зараження ооцистами *Eimeria*, що були опубліковані за останній час. Суміш жирних кислот з моногліцеридами пригнічувала розвиток патогену так само, як і КЖК-М суміш в нашому дослідженні (Gharib-Naseri et al., 2021).

Представлені результати можуть бути корисними для ефективного застосування сучасних методів оцінки здоров'я кишечника, забезпечення вчасного реагування на потенційні виклики ушкоджень інтестинальних функцій. Актуальними задачами сталого птахівництва у пост-антибіотичну еру є дослідження мікробної екології та з'ясування способу взаємодії кишкового мікробіому птахів із геномом господаря (Ballou et al., 2016). Для вирішення таких задач необхідно

розробити відповідні методологічні засоби і стратегії спрямовані на інтегративне розуміння того, як мікробіом птахів розвивається за різних фізіологічних станів і методів управління.

Висновки

За результатами ПЛР-досліджень у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів ознак колонізації кишечно-микробактеріями *Cl. perfringens* та іншими видами мікроорганізмів з родини *Eimeria sp.* не виявлено. Виявлено лише генетичний матеріал *E. acervulina*. Встановлено бактеріальне навантаження *E. acervulina* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів на 27 та 34 добу життя, що вказує на активізацію у птиці кокцидіозу. У 29-добових курчат-бройлерів контрольної групи екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* була 67% при інтенсивності колонізації $2,17 \times 10^5 \pm 3,21 \times 10^4$ г.-е. Екстенсивність колонізації з 29-ї до 36-ї доби життя курчат не змінюється, однак зменшується інтенсивність колонізації до $1,41 \times 10^7 \pm 8,48 \times 10^6$ г.-е. До 45-ї доби життя курчат відбувається зменшення екстенсивності колонізації до 33 % та інтенсивності колонізації до $3,37 \times 10^5$ г.-е.

Застосування КЖК-М у якості кормової добавки індукувало зниження екстенсивності колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* на 17% при значно більшій інтенсивності колонізації $9,6 \times 10^6 \pm 4,7 \times 10^5$ г.-е. у 29-добових курчат-бройлерів дослідної групи. З 29-ї до 36-ї доби життя курчат екстенсивність колонізації підвищується до 100%, а інтенсивності колонізації становить $2,9 \times 10^8 \pm 1,5 \times 10^7$ г.-е. Про ефективність застосування КЖК-М через пригнічення росту патогенів свідчить той факт, що генетичний матеріал *E. acervulina* не виявлений у 45-добових курчат дослідної групи.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні схеми задавання КЖК-М курчатам-бройлерам, які замінять, або мінімізують застосування антибактеріальних препаратів у птахівництві.

Фінансування

Робота була виконана за фінансової підтримки Міністерства Освіти і Науки України (держбюджетна тема № 0122U001318, ID:188187 05.11.2021).

Подяки

Автори вдячні за підтримку у проведенні дослідження згідно угоди між Продовольчою та сільськогосподарською організацією (FAO) Об'єднаних Націй та Дніпровським державним аграрно-економічним університетом (PO №: 355533, FAO код проєкта: IECAL002XTAS02).

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abdelli, N., Solà-Oriol, D., & Pérez, J. F. (2021). Phytogenic Feed Additives in Poultry: Achievements, Prospective and Challenges. *Animals*, 11(12), 3471. DOI: 10.3390/ANI11123471.
- Al-Marzooqi, W. (2022). Microbial Diversity and community dynamics in the intestines of broiler chicken raised in an open-sided house. In *Animal Husbandry*. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.103815.
- Ballou, A. L., Ali, R. A., Mendoza, M. A., Ellis, J. C., Hassan, H. M., Croom, W. J., & Koci, M. D. (2016). Development of the Chick Microbiome: How Early Exposure Influences Future Microbial Diversity. *Frontiers in veterinary science*, 3, 2. DOI: 10.3389/fvets.2016.00002.
- de Andrade, R. M., Pagnussatt, H., Talian, L. E., Santo, A. D., Ribeiro, A. B., Leite, F., de Castro Tavernari, F. (2022). Interaction between live vaccines for coccidiosis and phytogenic compounds in the diet of broilers. *Parasitology International*, 89, 102584. DOI: 10.1016/J.PARINT.2022.102584.
- Fathima, S., Shanmugasundaram, R., Adams, D., & Selvaraj, R. K. (2022) Gastrointestinal Microbiota and Their Manipulation for Improved Growth and Performance in Chickens. *Foods*, 11, 1401. DOI: 10.3390/foods11101401.
- Gharib-Naseri, K., Kheravii, S. K., Li, L., & Wu, S.-B. (2021). Buffered formic acid and a monoglyceride blend coordinately alleviate subclinical necrotic enteritis impact in broiler chickens. *Poultry Science*, 100(8), 101214. DOI: 10.1016/j.psj.2021.101214.
- Glendinning, L., Watson, K. A., & Watson, M. (2019). Development of the duodenal, ileal, jejunal and caecal microbiota in chickens. *Animal Microbiome*, 1(1), 17. DOI: 10.1186/s42523-019-0017-z.
- Jackman, J. A., Laverne, T. A., & Elrod, C. C. (2022). Antimicrobial monoglycerides for swine and poultry applications. *Frontiers in Animal Science*, 3, 1019320. DOI: 10.3389/FANIM.2022.1019320.
- Li, L., Wang, H., Zhang, N., Zhang, T., & Ma, Y. (2022). Effects of α -glycerol monolaurate on intestinal morphology, nutrient digestibility, serum profiles, and gut microbiota in weaned piglets. *Journal of Animal Science*, 100(3), skac046. DOI: 10.1093/jas/skac046.
- Masiuk, D., Nedzvetsky, V., & Maksymchuk, Ya. (2024). The current state and prospects for the use of organic acids and their compositions in poultry feed: A literature review. *Scientific Horizons*, 27(7), 148–157. DOI: 10.48077/scihor7.2024.148.
- Rychlik, I. (2020). Composition and function of chicken gut microbiota. *Animals*, 10(1), 103. DOI: 10.3390/ani10010103.
- Rysman, K., Eeckhaut, V., Croubels, S., Maertens, B., & Van Immerseel, F. (2023). Iohexol is an intestinal permeability marker in broilers under coccidiosis challenge. *Poultry Science*, 102(6). DOI: 10.1016/J.PSJ.2023.102690.
- Shang, Y., Kumar, S., Oakley, B., & Kim, W. K. (2018). Chicken gut microbiota: importance and detection technology. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 254. DOI: 10.3389/fvets.2018.00254.
- Wigley, P. (2015). Blurred lines: Pathogens, commensals, and the healthy gut. *Frontiers in Veterinary Science*, 2, 164628. DOI: 10.3389/FVETS.2015.00040.