

Przyszłość kontroli kokcydiozy



Madalina Diaconu, Product Manager Pretect D, EW Nutrition i
Dr Twan van Gerwe, dyrektor techniczny, EW Nutrition

Przy kosztach przekraczających 14 miliardów USD rocznie (Blake, 2020), kokcydioza jest jednym z najbardziej niszczycielskich wyzwań jelitowych w branży drobiarskiej. Jeśli chodzi o koszty, subkliniczne formy kokcydiozy stanowią większość strat produkcyjnych, ponieważ uszkodzenie komórek jelitowych powoduje niższą masę ciała, wyższe współczynniki konwersji paszy, brak jednorodności stada i niepowodzenia w pigmentacji skóry. Temu wyzwaniu można sprostać tylko wtedy, gdy zrozumiemy podstawy kontroli kokcydiozy u drobiu i jakie opcje mają producenci w zakresie zarządzania ryzykiem kokcydiozy.

Obecne strategie pokazują słabe punkty

Dobre zarządzanie gospodarstwem, zarządzanie ściółką i programy kontroli kokcydiozy, takie jak programy wahadłowe i rotacyjne, stanowią podstawę zapobiegania klinicznej kokcydiozie. Bardziej skuteczne strategie obejmują monitorowanie choroby, strategiczne stosowanie kokcydiostatyków i coraz częściej szczepionki przeciwko kokcydiozie. Jednak wewnętrzne właściwości kokcydiów sprawiają, że pasożyty te często są frustrujące w kontrolowaniu. Nabyta oporność na dostępne kokcydiostatyki jest najtrudniejszym i najtrudniejszym czynnikiem do pokonania.

Optymalnie programy kontroli kokcydiozy są opracowywane w oparciu o historię gospodarstwa i ciężkość infekcji. Tradycyjnie stosowanymi kokcydiostatykami były chemikalia i jonofory, a jonofory były antybiotykami politerowymi. Aby zapobiec rozwojowi oporności, kokcydiostatyki były stosowane w programach wahadłowych lub rotacyjnych, w których w programie rotacji zmiany przeciwwkokcydiowe ze stada na stado, a także w programie wahadłowym w ciągu jednego cyklu produkcyjnego (Chapman, 1997).

Strategie kontroli nie są jednak w 100% skuteczne. Powodem tego jest brak różnorodności dostępnych leków i nadużywanie niektórych leków w programach. Dodatkowy brak wystarczającego monitorowania kokcydiozy i rygorystycznej optymalizacji finansowej często prowadzi do oszczędnych, ale tylko marginalnie skutecznych rozwiązań. Na pierwszy rzut oka wydają się skuteczne, ale w rzeczywistości promują oporność, rozwój subklinicznej kokcydiozy, wyrażonej w pogorszonym współczynniku konwersji

paszy, a być może także klinicznej kokcydiozy.

Wymagania rynkowe i regulacje napędzają strategie kontroli kokcydiozy

Zmiana strategii kontroli kokcydiozy ma dwa główne czynniki: globalne zainteresowanie łagodzeniem oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe oraz zapotrzebowanie konsumentów na produkcję mięsa bez antybiotyków.

Władze pozostawiły jonofory nietknięte

Już pod koniec 1990 roku, z obawy przed rosnącą opornością na środki przeciwdrobnoustrojowe, UE wycofała zezwolenie na stosowanie awoparcyny, bacytracyny, spiramycyny, wirginiamycyny i fosforanu tylozyny, typowych stymulatorów wzrostu, aby "pomóc zmniejszyć oporność na antybiotyki stosowane w terapii medycznej". Jednak jonofory, będące również antybiotykami, pozostały nietknięte: Rozporządzenie (WE) nr 1831/2003 [13] Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. wyraźnie rozróżniało kokcydiostatyki i antybiotykowe stymulatory wzrostu. W przeciwieństwie do antybiotykowych stymulatorów wzrostu, których głównym miejscem działania jest mikroflora jelitowa, kokcydiostatyki mają jedynie wtórną i resztkową aktywność przeciwko mikroflorze jelitowej. Ponadto Komisja oświadczyła w 2022 r., że obecnie nie wyklucza się stosowania kokcydiostatyków "nawet pochodzenia antybiotykowego" (MEMO/02/66, 2022), ponieważ "higieniczne środki ostrożności i adaptacyjne środki chowu nie wystarczą, aby utrzymać drób wolny od kokcydiozy" oraz że "nowoczesna hodowla drobiu jest obecnie możliwa tylko wtedy, gdy kokcydiozie można zapobiec poprzez hamowanie lub zabijanie pasożytów podczas ich rozwoju". Innymi słowy, Komisja przyznała, że jonofory są nadal dopuszczone tylko dlatego, że uważała, że nie ma innych środków zwalczania kokcydiozy w rentownej produkcji drobiu.

Trendy konsumenckie napędzały badania nad naturalnymi rozwiązaniami

Ze względu na zapotrzebowanie konsumentów na produkcję mięsa o obniżonej ilości antybiotyków lub, jeszcze lepiej, wolną od antybiotyków, zintensyfikowane badania przemysłowe mające na celu zwalczanie kokcydiozy za pomocą naturalnych rozwiązań wykazały sukces. Wiedza, badania i rozwój technologiczny są obecnie na etapie oferowania rozwiązań, które mogą być skuteczną częścią programu kontroli kokcydiów i otworzyć możliwości uczynienia produkcji drobiu jeszcze bardziej zrównoważoną poprzez zmniejszenie uzależnienia od narkotyków.

Producenci z innych krajów już zareagowali. W odróżnieniu od obchodzenia się z systemem jonoforów w UE, gdzie są one dozwolone jako dodatki paszowe, w Stanach Zjednoczonych, kokcydiostatyki należące do klasy polietierowo-jonoforowej nie są dozwolone w programach NAE (No Antibiotics Ever) i RWE (Raised Without Antibiotics). Zamiast używać jonoforów, kokcydioza jest kontrolowana za pomocą weterynaryjnej kombinacji żywych szczepionek, związków syntetycznych, fitomolekuł i zarządzania gospodarstwem. Takie podejście może być skuteczne, o czym świadczy fakt, że ponad 50% produkcji mięsa brojlerów w USA to NAE. Innym przykładem jest Australia, gdzie dwie wiodące sieci sklepów detalicznych również wykluczają chemiczne kokcydiostatyki z produkcji brojlerów. W niektórych krajach europejskich, np. w Norwegii, coraz większy nacisk kładzie się na zakaz stosowania jonoforów.

Przejsie na naturalne rozwiązania

wymaga wiedzy i finezji

Na początku przejście z produkcji konwencjonalnej na produkcję NAE może być trudne. Istnieje możliwość pominięcia jonoforów i zarządzania programem sterowania tylko za pomocą chemikaliów o różnych trybach działania. Bardziej skuteczne jest jednak połączenie szczepień i chemikaliów (program bio-wahadłowy) lub połączenie fitomolekuł ze szczepionkami i / lub chemikaliami (Gaydos, 2022).

Podstawowe szczepienia przeciwko kokcydiozie

Kiedy zdecyduje się, że naturalne roztwory będą stosowane do zwalczania kokcydiozy, należy wiedzieć kilka rzeczy na temat szczepień:

1. Istnieją różne szczepy szczepionek, naturalne wybrane z terenu i szczepy atenuowane. Te pierwsze wykazują średnią patogeniczność i umożliwiają kontrolowaną infekcję stada. Te ostatnie, będące wcześniej dojrzałymi szczepami o niższej patogenności, zwykle powodują tylko niskie lub żadne reakcje poszczepienne.
2. Program kokcydiozy, który obejmuje szczepienia, powinien obejmować okres od wylęgarni do końca cyklu produkcyjnego. Doskonałe zastosowanie szczepionek i skuteczna recyrkulacja szczepów szczepionkowych wśród brojlerów to tylko dwa przykłady warunków wstępnych, które muszą zostać spełnione, aby odnieść sukces, a tym samym wczesną i jednorodną odporność stada.
3. Perfekcyjne obchodzenie się ze szczepionkami ma kluczowe znaczenie. W tym celu personel przeprowadzający szczepienia w wylęgarni lub na fermie musi zostać przeszkolony. W niektórych sytuacjach konsekwentne stosowanie wysokiej jakości w gospodarstwie okazało się wyzwaniem. W rezultacie, rośnie zainteresowanie stosowaniem szczepionek w wylęgarni.

Fitochemikalia są doskonałym narzędziem uzupełniającym programy kontroli kokcydiozy

Ponieważ dostępność szczepionek jest ograniczona, a koszty stosowania są stosunkowo wysokie, przemysł bada środki lub produkty wspomagające i odkrył, że fitochemikalia są najlepszym wyborem. Skuteczne substancje fitochemiczne mają właściwości przeciwdrobnoustrojowe i przeciwpasożytnicze oraz zwiększają odporność ochronną u drobiu zakażonego kokcydiozą. Mogą być stosowane rotacyjnie ze szczepieniami, w celu ograniczenia reakcji poszczepiennych (nieatenuowanych) szczepionek przeciwko terenowym szczepom lub w połączeniu z chemicznymi kokcydiostatykami w programie wahadłowym.

W niedawnym artykule przeglądowym (El-Shall i in., 2022) opisano naturalne produkty ziołowe i ich ekstrakty w celu skutecznego zmniejszenia produkcji oocysty poprzez hamowanie inwazji, replikacji i rozwoju gatunków Eimeria w tkankach jelitowych kurczaka. Związki fenolowe w ekstraktach ziołowych powodują śmierć komórek kokcydiów i niższą liczbę oocyst. Ponadto dodatki ziołowe oferują korzyści, takie jak zmniejszenie peroksydacji lipidów jelitowych, ułatwienie naprawy nabłonka i zmniejszenie przepuszczalności jelit wywołanej Eimerią.

Różne środki fitochemiczne pokazano w tej uproszczonej adaptacji tabeli z El-Shall i wsp. (2022), wskazując na skutki wywierane na drób w związku z zakażeniem kokcydiami.

Związek bioaktywny	Efekt
--------------------	-------

Saponiny	<i>Hamowanie kokcydiów:</i> Wiążąc się z cholesterolem błonowym, saponiny zaburzają lipidy w błonie komórkowej pasożyta. Wpływ na aktywność enzymatyczną i metabolizm prowadzi do śmierci komórki, która następnie wywołuje efekt toksyczny w dojrzałych enterocytach w błonie śluzowej jelit. W rezultacie komórki zakażone sporozoitem są uwalniane, zanim pierwotniaki osiągną fazę merozoitu. <i>Wsparcie dla kurczaka:</i> Saponiny wzmacniają niespecyficzną odporność i zwiększają wydajność produkcyjną (wyższy dzienny przyrost i lepszy FCR, niższa śmiertelność). Zmniejszają wydalanie oocysty w kale i zmniejszają produkcję amoniaku.
Garbniki	<i>Hamowanie kokcydiów:</i> Garbniki przenikają przez ścianę oocysty kokcydiów i dezaktywują endogenne enzymy odpowiedzialne za zarodnikowanie. <i>Wsparcie dla kurczaka:</i> Dodatkowo wzmacniają aktywność przeciwciał przeciwkokcydiowych poprzez zwiększenie odporności komórkowej i humoralnej.
Flawonoidy i terpenoidy	<i>Hamowanie kokcydiów:</i> Hamują inwazję i replikację różnych gatunków kokcydiów. <i>Wsparcie dla kurczaka:</i> Wiążą się z receptorem mannozy na makrofagach i stymulują je do wytwarzania cytokin zapalnych, takich jak IL-1 do IL-6 i TNF. Większy przyrost masy ciała i niższa produkcja oocysty kałowej wskazują na supresję kokcydiozy.
Artemizynina	<i>Hamowanie kokcydiów:</i> Jego wpływ na homeostazę wapnia upośledza tworzenie się ściany oocysty i prowadzi do wadliwej ściany komórkowej, a ostatecznie do śmierci oocysty. Zwiększenie produkcji ROS bezpośrednio hamuje zarodnikowanie, a także tworzenie ścian, a zatem wpływa na cykl życiowy Eimerii. <i>Wsparcie dla kurczaka:</i> Zmniejszenie wydzielania oocysty
Proszek z liści Artemisia annua	<i>Wsparcie dla kurczaka:</i> Ochrona przed objawami patologicznymi i śmiertelnością związaną z zakażeniem Eimeria tenella. Zmniejszona punktacja zmian i wydalanie oocysty kałowej. Proszek z liści był bardziej wydajny niż olej eteryczny, co może wynikać z braku artemizyniny w oleju i większej zdolności antyoksydacyjnej liści A. annua niż oleju.
Fenole	<i>Hamowanie kokcydiów:</i> Fenole zmieniają przepuszczalność błony cytoplazmatycznej dla kationów (H⁺ i K⁺), upośledzając istotne procesy w komórce. Wynikający z tego wyciek składników komórkowych prowadzi do zachwiania równowagi wody, załamania potencjału błonowego, zahamowania syntezy ATP, a wreszcie śmierci komórki. Ze względu na toksyczny wpływ na górną warstwę dojrzałych enterocytów błony śluzowej jelit, przyspieszają naturalny proces odnowy, a zatem komórki zakażone sporozoitem są zrzucane, zanim kokcydia osiągnie fazę merozoitu.

Tabela 1: Związki bioaktywne i ich działanie przeciwkokcydowe wywierane u drobiu

Konsumenci głosują na naturalne – fitochemikalia są rozwiązaniem

Ze względu na wciąż rosnącą oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe konsumenci naciskają na produkcję mięsa bez stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych. Fitomolekuły, jako naturalne rozwiązanie, stwarzają możliwości uczynienia produkcji drobiu bardziej zrównoważoną poprzez zmniejszenie zależności od szkodliwych leków. Wraz z ich pojawieniem się istnieje nadzieja, że oporność na antybiotyki może być kontrolowana bez wpływu na opłacalność hodowli drobiu.

Skuteczne fitomolekuły łączą w sobie doskonałą stabilność obróbki i silne działanie u zwierzęcia



Przez **Dr. Inge Heinzl**, redaktor i **dr Ruturaj Patil**, Global Product Manager – Phytogenics, EW Nutrition

Przez tysiąclecia rośliny były wykorzystywane do celów leczniczych w medycynie ludzkiej i weterynaryjnej oraz jako przyprawy w kuchni. Od czasu wprowadzenia zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu w 2006 r. przez Unię Europejską, znalazły one również nacisk na żywienie zwierząt. Ze względu na ich właściwości trawienne, przeciwdrobnoustrojowe i promujące zdrowie jelit, wydawały się idealną alternatywą dla zredukowania zmniejszonego stosowania antybiotyków w krytycznych okresach, takich jak zasiedlenie, zmiana paszy lub stres związany z jelitami.

Aby zoptymalizować korzyści płynące z fitomolekuł, ważne jest, aby

- Poziomy fitomolekuł są standaryzowane w celu uzyskania spójnych wyników i synergii
- wykazują najwyższą stabilność podczas rygorystycznej obróbce paszy; Będąc często bardzo lotnymi substancjami, nie powinny ulegać destabilizacji w wysokich temperaturach i ciśnieniu
- Fitomolekuły są korzystnie całkowicie uwolnione i dostępne u zwierzęcia, aby osiągnąć najlepszą skuteczność.

Pierwszy krok: Standaryzowane fitomolekuły

Olejki eteryczne i inne fitogeniki pochodzą z roślin. Skład [roślin zasadniczo zależy od](#) odmienności genetycznej w akcesjach, pochodzenia roślin, warunków terenowych, takich jak pogoda, gleba, zbiorowisko i czas zbiorów, ale także procesów suszenia, przechowywania i ekstrakcji próbek (Sadeh i in., 2019; Yang i in., 2018; Ehrlinger, 2007). Na przykład oliwa ekstrahowana z tymianku może zawierać od 22 do 71% odpowiedniego tymolu fenolu ([Soković i in., 2009](#); [Shabnum i Wagay, 2011](#); [Kowalczyk i wsp., 2020](#)).

Nowoczesna technologia umożliwia produkcję standaryzowanych fitomolekuł o najwyższym stopniu czystości i najniższej możliwej zmienności między partiami dla produktów wysokiej jakości. Oferuje również większy zrównoważony rozwój środowiskowy i ekonomiczny dzięki niezawodnej i opłacalnej technologii pozyskiwania.

Zastosowanie tak [wysoce standaryzowanych fitomolekuł](#) umożliwia produkcję fitogenicznych suplementów paszowych o niezmiennie wysokiej jakości.

Krok drugi: Wybór najbardziej odpowiednich fitomolekuł

Fitomolekuły mają różne podstawowe cechy. Niektóre wspomagają [trawienie](#) (Cho et al., 2006, Oetting, 2006; Hernandez, 2004); inne [działają przeciwko patogenom](#) (Sienkiewicz i in., 2013; Smith-Palmer i inni, 1998; Özer i in., 2007) lub są [przeciwutleniaczami](#) (Wei i Shibamoto, 2007; Cuppett i Hall, 1998). Aby zoptymalizować zdrowie jelit w produkcji zwierzęcej, jednym z głównych obiecujących mechanizmów jest redukcja patogenów przy jednoczesnym wzroście pożytecznych drobnoustrojów. Zmniejszenie patogenów w jelitach nie tylko zmniejsza ryzyko występowania zapalenia jelit, ale także eliminuje niewygodnych konkurentów dla paszy.

Aby znaleźć najlepszą kombinację służącą zamierzonemu celowi, należy najpierw ocenić dużą liczbę różnych fitomolekuł pod kątem ich struktury, właściwości chemicznych i aktywności biologicznej. Dostępność i koszt substancji to kolejne czynniki, które należy wziąć pod uwagę. Przy wyborze najbardziej odpowiednich fitomolekuł produkowane i testowane są różne mieszaniny pod kątem ich skuteczności. W tym przypadku istotne jest uwzględnienie efektów synergicznych lub antagonistycznych.

Aby uzyskać skuteczną i wydajną mieszankę fitomolekuł, konieczne jest wiele etapów selekcji i testów – w wyniku czego prawdopodobnie tylko kilka mieszanin może spełnić wymagania.

Krok trzeci: Ochrona składników

Wiele fitomolekuł jest z natury bardzo niestabilnych. Tak więc tylko standaryzowana zawartość fitogeników w produkcie nie może zapewnić pełnej dostępności fitomolekuł, gdy są stosowane w paszy dla zwierząt. Niektóre części składników mogą już zagubić się w młynie paszowym ze względu na rygorystyczny proces higienizacji paszy stosowany przez młynarzy paszowych w celu zmniejszenia obciążenia chorobotwórczego. Ogrzewanie jest poważnym wyzwaniem dla wysoce lotnych składników w produkcie na bazie fitomolekuł. Tak więc ochrona tych fitomolekuł staje się niezbędna, aby zagwarantować, że fitomolekuły wprowadzone do paszy dotrą do zwierzęcia.

Wymagana jest delikatna równowaga, aby zapewnić dostępność i aktywność fitomolekuł we właściwym miejscu w jelitach. Fitomolekuły nie mogą zostać utracone podczas przetwarzania paszy, ale muszą być również uwalniane w jelicie. Nośnik z kapilarnym wiązaniem fitomolekuł wraz z powłoką ochronną może być jednym z dostępnych skutecznych rozwiązań. Chroni składniki podczas przetwarzania paszy i zapewnia uwalnianie u zwierzęcia.

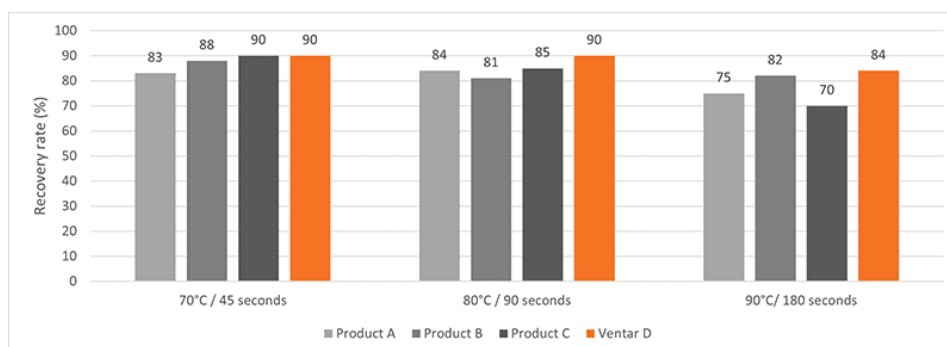
Badania wykazują doskonałą stabilność Ventar D w trudnych warunkach

[Ventar D](#) to najnowszej generacji rozwiązanie oparte na fitomolekułach do optymalizacji zdrowia jelit wprowadzone przez EW Nutrition, GmbH. Przeprowadzono badanie naukowe w celu porównania stabilności Ventar D w procesie granulowania z dwoma wiodącymi fitogenicznymi konkurencyjnymi suplementami paszowymi.

W tym badaniu pasza z różnymi dodanymi fitogenicznymi suplementami paszowymi musiała zostać poddana procesowi kondycjonowania i granulacji. Składniki aktywne analizowano przed i po procesie peletyzacji. Wszystkie testowane fitogeniczne suplementy paszowe zostały dodane do standardowej paszy dla brojlerów przy zalecanym przez producenta współczynniku włączenia. Testy przeprowadzono w czasach kondycjonowania 45, 90 i 180 sekund oraz temperaturach granulowania 70, 80 i 90 ° C (158, 176 i 194 ° F). Po schłodzeniu zebrano i przeanalizowano trzy próbki. Odpowiednią substancję znacznikową analizowano za pomocą chromatografii gazowej/spektrometrii masowej (GC/MS) w celu zmierzenia szybkości odzysku w gotowej paszy. Zawartość fitomolekuł w paszy zacieru (przed granulacją) znaleziona

przez laboratorium została wykorzystana jako punkt odniesienia i ustawiona na 100% odzysku. Wskaźniki odzysku paszy granulowanej oceniano w odniesieniu do tego poziomu wyjściowego.

Wyniki przedstawiono na rysunku 1. Ventar D wykazał najwyższą stabilność składników aktywnych ze współczynnikami odzysku 90% w temperaturze 70°C/45 sek. lub 80°C/90 s i 84% w temperaturze 90°C/180 s. Nowoczesna technologia produkcji zastosowana w Ventar D zapewnia, że składniki aktywne są dobrze chronione w całym procesie granulacji.



Rysunek 1: Stabilność fitomolekuł w warunkach przetwarzania, w stosunku do linii podstawowej zacieru (100%)

Kolejną próbę przeprowadzono w wytwórni pasz w USA. Do tej próby zebrano dziesięć próbek z różnych partii paszy zacieru, w której dodano Ventar D w dawce 110 g / t. Kondycjonowanie zacieru było w temperaturze 87,8 ° C (190 ° F) przez 6 minut i 45 sekund. Po procesie granulowania pobrano dziesięć próbek z granulowanej paszy z ciągłego przepływu z 5-minutową przerwą między próbkami w celu określenia odzysku Ventar D.

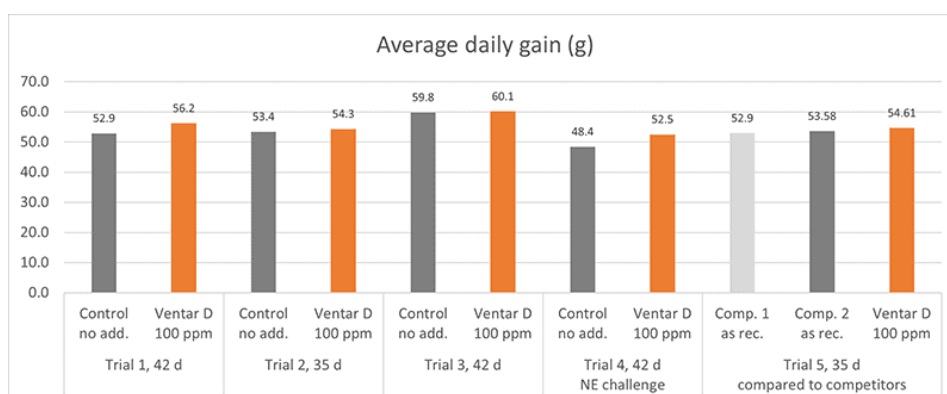
Średni odzysk uzyskany dla Ventar D wyniósł 92%.

Badania wykazują poprawę wydajności wzrostu

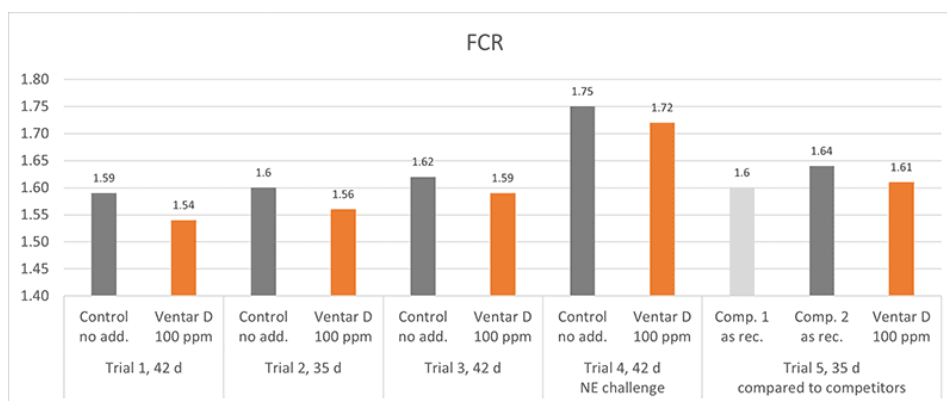
Wstępne próby wykazały całkowite uwalnianie Ventar D w modelach trawienia. Aby zbadać korzyści w warunkach in vivo, Ventar D testowano u brojlerów z szybkością włączenia 100 g / MT.

Kilka badań in vitro wykazało aktywność przeciwdrobnoustrojową leku Ventar D. Jeden test potwierdza również, że Ventar D może wykazywać zróżnicowaną aktywność przeciwdrobnoustrojową poprzez silniejszą [aktywność przeciwko powszechnym bakteriom enteropatogennym, oszczędzając jednocześnie korzystne](#) (Heinzl, 2022). Co więcej, działanie przeciwtleniające i przeciwzapalne Ventar D wspiera lepsze funkcjonowanie bariery jelitowej. Lepsze zdrowie jelit prowadzi do wyższej wydajności wzrostu i lepszej konwersji paszy, co można wykazać w kilku badaniach z brojlerami (ryc. 2 i 3). W testach grupę otrzymującą Ventar D porównano z grupą kontrolną bez takiego suplementu paszowego lub grupami dostarczającymi z produktami konkurencyjnymi w zalecanych dawkach włączenia.

W porównaniu z negatywną grupą kontrolną, grupa Ventar D konsekwentnie wykazywała wyższy średni dzienny przyrost 0,3-4,1 g (0,5-8,5%) i o 3-4 punkty lepszą konwersję paszy. W porównaniu z produktami konkurencji, Ventar D zapewnił o 1-1,7 g (2-3%) wyższy średni dzienny przyrost i o 3 punkty lepszy / 1 punkt wyższy FCR niż konkurenci 2 i 1.



Rysunek 2: Średni przyrost dobowy (g) - wyniki kilku badań przeprowadzonych z brojlerami



Rysunek 3: FCR – wyniki kilku badań przeprowadzonych z brojlerami

Standaryzacja i nowe technologie dla wyższej rentowności

Kilka badań in vitro i in vivo dowiodło, że Ventar D przenosi “moc fitomolekuł” na wyższy poziom: Połączenie standaryzowanych fitomolekuł i optymalnej ochrony składników aktywnych prowadzi do doskonałej stabilności produktu podczas przetwarzania paszy. Większa ilość składników aktywnych docierających do jelit poprawia zdrowie jelit i zwiększa wydajność produkcyjną zwierząt. Ventar D pokazuje, w jaki sposób możemy efektywniej wykorzystywać fitomolekuły i czerpać korzyści z wyższej rentowności gospodarstwa.

References:

- Cho, J. H., Y. J. Chen, B. J. Min, H. J. Kim, O. S. Kwon, K. S. Shon, I. H. Kim, S. J. Kim, and A. Asamer. “Effects of Essential Oils Supplementation on Growth Performance, IGG Concentration and Fecal Noxious Gas Concentration of Weaned Pigs”. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 19, no. 1 (2005): 80–85. <https://doi.org/10.5713/ajas.2006.80>.
- Cuppett, Susan L., and Clifford A. Hall. “Antioxidant Activity of the Labiatae”. *Advances in Food and Nutrition Research* 42 (1998): 245–71. [https://doi.org/10.1016/s1043-4526\(08\)60097-2](https://doi.org/10.1016/s1043-4526(08)60097-2).
- Ehrlinger, M. “Phytogenic Additives in Animal Nutrition.” Dissertation, Veterinary Faculty of the Ludwig Maximilians University, 2007.
- Heinzl, I. “Efficient Microbiome Modulation with Phytomolecules”. EW Nutrition, August 30, 2022. <https://ew-nutrition.com/pushing-microbiome-in-right-direction-phytomolecules/>.
- Hernández, F., J. Madrid, V. García, J. Orengo, and M.D. Megías. “Influence of Two Plant Extracts on Broilers Performance, Digestibility, and Digestive Organ Size.” *Poultry Science* 83, no. 2 (2004): 169–74. <https://doi.org/10.1093/ps/83.2.169>.
- Kowalczyk, Adam, Martyna Przychodna, Sylwia Sopata, Agnieszka Bodalska, and Izabela Fecka. “Thymol and Thyme Essential Oil—New Insights into Selected Therapeutic Applications.” *Molecules* 25, no. 18 (2020): 4125. <https://doi.org/10.3390/molecules25184125>.
- Lindner, , U. “Aromatic Plants – Cultivation and Use.” Düsseldorf: Teaching and Research Institute for Horticulture Auweiler-Friesdorf, 1987.
- Oetting, Liliana Lotufo, Carlos Eduardo Utiyama, Pedro Agostinho Giani, Urbano dos Ruiz, and Valdomiro Shigueru Miyada. “Efeitos De Extratos Vegetais e Antimicrobianos Sobre a Digestibilidade Aparente, O Desempenho, a Morfometria Dos Órgãos e a Histologia Intestinal De Leitões Recém-Desmamados.” *Revista Brasileira de Zootecnia* 35, no. 4 (2006): 1389–97. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982006000500019>.
- Sadeh, Dganit, Nadav Nitzan, David Chaimovitch, Alona Shachter, Murad Ghanim, and Nativ Dudai. “Interactive Effects of Genotype, Seasonality and Extraction Method on Chemical Compositions and Yield of Essential Oil from Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L’).” *Industrial Crops and Products* 138 (2019): 111419.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.068>.

Shabnum, Shazia, and Muzafar G. Wagay. "Essential Oil Composition of *Thymus Vulgaris* L. and Their Uses". *Journal of Research & Development* 11 (2011): 83-94.

Sienkiewicz, Monika, Monika Łysakowska, Marta Pastuszka, Wojciech Bienias, and Edward Kowalczyk. "The Potential of Use Basil and Rosemary Essential Oils as Effective Antibacterial Agents." *Molecules* 18, no. 8 (2013): 9334-51. <https://doi.org/10.3390/molecules18089334>.

Smith-Palmer, A., J. Stewart, and L. Fyfe. "Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils and Essences against Five Important Food-Borne Pathogens". *Letters in Applied Microbiology* 26, no. 2 (1998): 118-22. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.1998.00303.x>.

Soković, Marina, Jelena Vukojević, Petar Marin, Dejan Brkić, Vlatka Vajs, and Leo Van Griensven. "Chemical Composition of Essential Oils of *Thymus* and *Mentha* Species and Their Antifungal Activities". *Molecules* 14, no. 1 (2009): 238-49. <https://doi.org/10.3390/molecules14010238>.

Wei, Alfreda, and Takayuki Shibamoto. "Antioxidant Activities and Volatile Constituents of Various Essential Oils." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, no. 5 (2007): 1737-42. <https://doi.org/10.1021/jf062959x>.

Yang, Li, Kui-Shan Wen, Xiao Ruan, Ying-Xian Zhao, Feng Wei, and Qiang Wang. "Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors". *Molecules* 23, no. 4 (2018): 762. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>.

Özer, Hakan, Münevver Sökmen, Medine Güllüce, Ahmet Adigüzel, Fikrettin Şahin, Atalay Sökmen, Hamdullah Kiliç, and Özlem Barış. "Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil and Methanol Extract of *Hippomarathrum Microcarpum* (Bieb.) from Turkey". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, no. 3 (2007): 937-42. <https://doi.org/10.1021/jf0624244>.