

ВПЛИВ ПРОБІОТИКІВ НА ІМУННИЙ СТАТУС ТА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ОКРЕМИХ СТРУКТУР ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ПОРОСЯТ

*Н. Е. Лісова, О. А. Максимович, О. М. Щербетовська, Г. В. Рудик,
М. І. Гуменецька, Г. В. Колодій*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок, Львів

У статті проаналізовано імунологічні, гістологічні та мікробіологічні показники організму поросят при застосуванні пробіотичних препаратів Probion-forte та Bio plus 2B. Згідно з отриманими результатами досліджень, вплив препаратів характеризувався активацією імунофізіологічних процесів, покращенням видового складу мікрофлори кишечника та стимуляцією секреції травних залоз. У результаті проведених досліджень встановлено, що максимально ефективним було застосування Probion-forte впродовж 10 тижнів у дозі 1,0 г/кг корму.

Порушення якісного і кількісного складу нормальної мікрофлори кишечника сільськогосподарських тварин можуть бути наслідком різних за етіологією патологічних станів. Зміни в мікробіоценозі кишечника, в свою чергу, можуть спричинити низку порушень метаболічного й імунного статусу, що свідчить про тісний зв'язок між нормальною мікрофлорою організму, його імунною реактивністю та перебігом багатьох біохімічних процесів [1–3].

Нормальна мікрофлора шлунково-кишкового тракту, за твердженням багатьох дослідників, є основою для створення імунологічного бар'єру організму. Саме мікрофлора стимулює вроджений та набутий імунітет і посилює як неспецифічні імунологічні фактори, так і специфічні — за рахунок утворення нормальних антитіл та помірної активації організму. Багатокомпонентна система нормальної мікрофлори забезпечує захист організму тварин також у випадку виникнення патологічних процесів, що зумовлені патогенними мікроорганізмами [4].

За останні два десятиліття в практиці ветеринарної медицини для профілактики та лікування розладів шлунково-кишкового тракту широко використовуються мікробні препарати — про- та пребіотики. На відміну від антибіотиків, пробіотики не викликають звикання з боку умовно-патогенної мікрофлори, продукти їх життєдіяльності не накопичуються в органах і тканинах і не погіршують якості продукції, вони безпечні для навколишнього середовища [3, 5]. Механізм дії пробіотиків спрямований на пригнічення росту патогенних мікроорганізмів, підвищення активності імунної системи та краще засвоєння поживних речовин корму. У цьому відношенні велику роль відіграють молочнокислі бактерії та бактерії нормальної мікрофлори, зокрема, *Bacillus subtilis*. Молочнокислі бактерії — одна з найчисленніших груп мікроорганізмів шлунково-кишкового тракту. Вони продукують велику кількість молочної кислоти, сприяючи розвитку інших видів мікроорганізмів, підтримують ферментативне бродіння й утворення органічних кислот. При цьому знижується рівень рН у товстому відділі кишечника, зменшується кількість кишкової палички, сальмонели й інших хвороботворних мікроорганізмів [2, 5].

Тому саме пробіотики, на основі вказаних мікроорганізмів, є препаратами, застосування яких виявляється ефективними для профілактики та лікування захворювань тварин.

Мета роботи — розглянути вплив препаратів Probion-forte та Bio plus 2B на показники імунного статусу, гістологічні показники та склад нормальної мікрофлори окремих органів травлення поросят після відлучення, впродовж 10 тижнів відгодівельного періоду.

Матеріали і методи. Дослідження проводили в ПАП “Агроветсервіс” с. Настасів, Тернопільського р-ну Тернопільської обл., на 120 поросятах породи Велика Біла, 28-добового віку, сформованих у чотири групи по 30 голів у кожній. Тварин утримували в клітках по 15 голів у кожній, з вільним доступом до корму і води. Комбікорм згодовували згідно з нормами, рекомендованими для породи Велика Біла, з урахуванням вікової категорії. Для визначення ефективності використання пробіотика Probion-forte виробництва фірми Woogen (Корея) та вивчення його впливу на організм поросят, препарат згодовували з кормом у різних концентраціях: 1 група отримувала пробіотик Probion-forte (*Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*) в дозі 1 г/кг корму (10 тижнів); 2 група — Probion-forte в дозі 1 г/кг (6 тижнів) та 0,5 г/кг корму (4 тижні); 3 група поросят отримувала пробіотик-аналог Bio plus 2B (*Bacillus subtilis*), виробництва фірми Biochem (Німеччина), який застосовували в дозі 0,4 г/кг корму впродовж 10 тижнів; 4 група була контрольною.

На 42 добу досліду (6 тижнів) з 1, 3 та 4 груп, а на 70 добу досліду (10 тижнів) з 1, 2, 3 та 4 груп відбирали по 10 голів для гематологічних, гістологічних і мікробіологічних досліджень. Кров відбирали з краніальної порожнистої вени. У отриманій крові та її сироватці (СК) визначали гематологічні, імунологічні та біохімічні показники за загальноприйнятими методиками клінічних досліджень [6, 7]. Відбір матеріалу для гістологічного та морфометричного досліджень проводили після забою поросят. Матеріалом для гістологічного аналізу були відділи кишечника, а саме, дванадцятипалої кишки, яку фіксували 10 % розчином нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах, ущільнювали в парафіні й готували гістозрізи на санному мікросомі, які фарбували гематоксиліном та еозином [8]. Мікроскопію гістопрепаратів здійснювали з допомогою мікроскопа OLIMPUS CX-41 і морфометричної програми DP-SOFT. Для мікробіологічних досліджень відбирали проби вмісту дванадцятипалої та сліпої кишок, в отриманих зразках досліджували видовий, кількісний та якісний склад мікрофлори методом розведень і посіву мікроорганізмів на селективні середовища. Ідентифікацію мікроорганізмів проводили за загальноприйнятими методиками [9].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel з урахуванням критерію Стьюдента.

Результати й обговорення. Мікробіологічними дослідженнями було встановлено, що застосування пробіотиків при відгодівлі поросят призводило до покращення складу мікрофлори кишечника — зменшення кількості умовно-патогенної мікрофлори і збільшення числа корисних мікроорганізмів. Зокрема, після 42 добового застосування пробіотиків у групі тварин, де застосовували Probion-forte у дозі 1 г/кг, з проб вмісту дванадцятипалої та сліпої кишок мікроорганізмів роду *Lactobacillus* висівали на 8,5 та 10,7 %, більше, ніж в контрольній групі, а мікроорганізмів роду *Bifidobacterium*, відповідно, на 14,8 та 27 %.

Після 70 добового застосування Probion-forte в дозі 1 г/кг корму, мікроорганізмів роду *Lactobacillus* висівали з дванадцятипалої та сліпої кишок, відповідно, на 14,1 та 23,1 % більше, ніж в контрольній групі, мікроорганізмів роду *Bifidobacterium*, відповідно, на 20 та 9,2 % більше, ніж в контрольній групі. У групі тварин, де застосовували Probion-forte у дозі 0,5 г/кг, з проб вмісту дванадцятипалої та сліпої кишок мікроорганізмів роду *Lactobacillus*, висівали більше, ніж в контрольній групі, на 13 та 20 %, відповідно, а мікроорганізмів роду *Bifidobacterium* на 18,8 та 4,6 %, відповідно. Отже, мікробіологічними дослідженнями встановлено позитивний вплив пробіотиків Probion-forte та Bio plus 2B на вміст нормальної мікрофлори кишківника свиней.

При гістологічному дослідженні дванадцятипалої кишки поросят 1-3 дослідних груп на 70 добу досліду (рис. 1-3) встановлено, що ворсинки цього органу були невисокими,

покритими одношаровим циліндричним епітелієм. Траплялись окремі ізольовані частини складок, які нагадували низькоциліндричні ворсинки або листовидні сосочки із заокругленими краями. Ентероцити мали добре виражену щіточкову облямівку на апікальній поверхні, витягнутої форми ядра розміщувались у базальній третині цитоплазми. Між ентероцитами виявляли поодинокі бокаловидні клітини, заповнені слизом. В основі ворсинок наявні крипти. Дуоденальні залози чітко сформовані, локалізувались у підслизовому шарі.

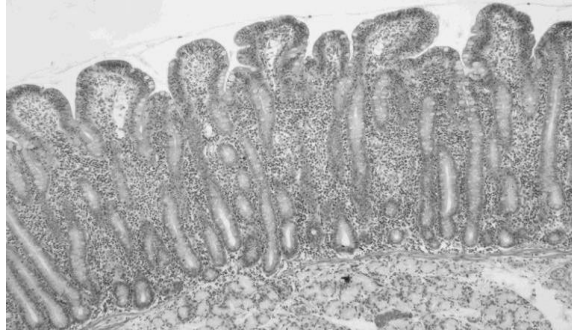


Рис. 1. Дванадцятипала кишка поросяти 1 групи. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

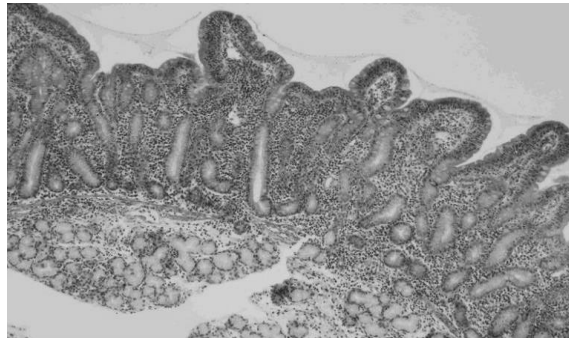


Рис. 2. Дванадцятипала кишка поросяти контрольної групи. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10.

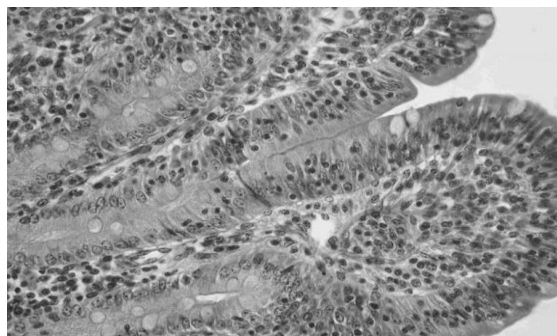


Рис. 3. Бокаловидні клітини на апікальному краї ворсинки дванадцятипалої кишки поросяти 1 групи.
Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40.

Також при гістологічному дослідженні слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят 1 та 2 груп відмічено, що структура проглядалася чітко, частина крипт, ближча до базальної мембрани, містила значну кількість секрету. За мікроскопії, в більшості крипт виявили численні бокаловидні клітини. Інша частина крипт містила невелику кількість оксифільного блідо-рожевого секрету, що свідчить про помірну активацію секреції. У контрольній групі, натомість, було відзначено зниження секреції епітеліального шару дванадцятипалої кишки. За морфометричними показниками, висота ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки у поросят 1, 2 та 3 груп була більшою від показника контрольної групи на 7,9, 5,6 та 4,5 %, відповідно, що підтверджувало позитивний вплив

пробіотиків на стан слизової оболонки дванадцятипалої кишки. Судини кишечника (різного калібру) були розширені й наповнені кров'ю. Вищеописані результати свідчать про те, що пробіотик стимулює секрецію в тонкому відділі кишечника, покращується травлення і всмоктування корму.

За результатами імунологічних та біохімічних досліджень, різниця між показниками поросят дослідних і контрольної груп була максимально вираженою після 10 тижневого застосування пробіотиків (70 доба досліду). Проте позитивні зміни показників гематологічної картини, зокрема, у поросят 1 групи, у порівнянні до контролю, було виявлено вже після 6 тижнів вживання пробіотиків, що вказувало на активацію процесів еритропоезу. Дані лейкоцитарної формули (табл. 1) свідчили, що, починаючи з 42 доби, у поросят цієї групи спостерігалася тенденція до зростання числа лімфоцитів, у порівнянні до показника контролю, а на 70 добу різниця за цим показником була статистично вірогідною.

Таблиця 1

Лейкоформула свиней при застосуванні пробіотиків Probion-forte та Bio plus 2B, (M ± m, n = 10)

Показники	Групи	42 доба досліду	70 доба досліду
Базофіли, %	1	0,3±0,3	0,8±0,3
	2	-	0,2±0,2
	3	0,6±0,3	0,5±0,4
	4	0,3±0,2	0
Еозинофіли, %	1	5,4±0,5	2,6±0,5*
	2	-	3,5±0,9
	3	7,3±2,7	3,5±1,3
	4	10,0±1,8	8,7±0,8
Лімфоцити, %	1	49,8±2,0	55,6±0,9*
	2	-	45,3±1,0
	3	44,0±1,2	44,0±1,2
	4	42,7±1,2	44,0±1,2
Моноцити, %	1	5,2±0,4	3,6±0,7
	2	-	4,0±0,7
	3	4,3±0,4	3,0±0,7
	4	3,3±0,8	4,7±0,8
Паличкоядерні нейтрофіли, %	1	4,6±1,0	2,8±0,7*
	2	-	5,0±0,4
	3	6,0±1,2	2,3±0,3
	4	6,0±1,2	5,0±0,6
Сегментоядерні нейтрофіли, %	1	34,4±0,9	35,4±1,5
	2	-	39,0±0,7
	3	38,0±2,3	39,5±1,0
	4	34,7±3,1	37,3±1,5

Примітка: у цій і наступних таблицях *—ступінь вірогідної різниці, $p \leq 0,05$

Достатній вміст лімфоцитів забезпечує належний імунний захист організму, отже, цей факт може вказувати на підсилення, зокрема, антивірусного потенціалу імунної системи [10, 11]. Також виявлено нижчу кількість еозинофілів у крові свиней 1 групи на 42 добу, у порівнянні до показника контролю. На 70 добу досліду достовірно нижчу кількість еозинофілів відмічено у свиней усіх груп, які отримували пробіотик. Зміни цього показника, у даному випадку, є важливими для оцінки імунного статусу тварин, оскільки свідчить про зниження алергізації організму [12].

Цей результат є наслідком покращення мікрофлори кишківника, яка опосередковано впливає на загальний стан імунної системи, отже, корекція нормальної флори шлунково-кишкового тракту сприяє гармонізації імунного захисту в цілому [5, 11].

Отримані дані вказують також на активацію гуморальних складових неспецифічної резистентності організму при застосуванні пробіотиків. Так, на 42 добу лізоцимна активність СК (ЛАСК) була вищою у поросят 1 і 3 груп у порівнянні до контролю (39,6±2,7 % та 41,4±2,6 % проти 33,3±1,5 %, відповідно). На 70 добу досліду в поросят 1, 2 і 3 дослідних груп показник ЛАСК також був достовірно вищим, в порівнянні до активності лізоциму сироватки тварин контрольної групи (40,3±1,0 %, 38,4±2,9 та 42,3±2,5 проти 32,9±3,0 %, відповідно, $p \leq 0,05$). Вищий рівень активності лізоциму вказує на більші можливості адаптаційних і захисних систем організму тварин. Про стабілізацію імунного захисту також свідчить зниження кількості циркулюючих імунних комплексів у СК поросят 1 та 2 груп на 70 добу експерименту.

Біохімічними дослідженнями встановлено зростання вмісту загального білка СК та його альбумінової фракції у поросят 1-2 груп (табл. 2).

Таблиця 2

Показники імунобіохімічного статусу свиней при застосуванні пробіотиків Probion-forte та Bio plus 2B (M ± m, n = 10)

Показники	Групи	42 доба досліду	70 доба досліду
1. Загальний білок, г/л	1	60,9±1,3	67,8±3,1
	2	-	69,3±1,8
	3	64,6±1,4	66,4±3,1
	4	63,6±1,6	63,0±1,1
Альбумін СК, %	1	27,2±1,4	37,1±2,1
	2	-	34,6±2,6
	3	33,7±2,2	35,9±3,1
	4	33,1±1,8	34,5±3,1

Отримані дані вказували на позитивний вплив препарату Probion-forte на процеси росту і розвитку молодняку свиней, оскільки свідчили про інтенсифікацію білкового обміну їх організму.

ВИСНОВКИ

За результатами гематологічних, імунологічних, мікробіологічних та гістологічних досліджень встановлено, що у рекомендованих виробником дозах, препарати Probion-forte та Bio plus 2B не викликали побічних реакцій в організмі поросят. Найбільші позитивні зрушення спостерігали у поросят 1 групи, які отримували Probion-forte впродовж 10 тижнів у дозі 1,0 г/кг корму. У них, внаслідок корекції нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту, відмічали суттєве покращення морфофункціонального стану дванадцятипалої кишки та гармонізацію імунного захисту в цілому.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати дають можливість подальших досліджень впливу пробіотиків на антиоксидантний статус крові та інші органи і системи організму різних видів сільськогосподарських тварин і птиці.

THE INFLUENCE OF PROBIOTICS ON IMMUNE STATUS AND MORPHOFUNCTIONAL CONDITION OF SEPARATE STRUCTURES OF INTESTINAL TRACT OF PIGLETS

N. E. Lisova, O. A. Maksymovych, O. M. Shchebentovska, H. V. Rudyk, M. I. Gumenetska, H. V. Kolodij

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives

S U M M A R Y

The article analyzes immunological, histological and microbiological indices of piglet organism at administration of probiotic medicinal products Probion-forte and Bio plus 2B. According to received test results, the influence of medicinal products was characterized by activation of immunophysiological processes, improvement of specific composition of intestinal microflora and stimulation of digestive gland secretion. The test results showed that application of Probion-forte was maximally effective during 10 weeks in dose of 1,0 g/kg of feed.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ НА ИММУННЫЙ СТАТУС И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ СТРУКТУР ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПОРОСЯТ

*Н. Э. Лисовая, О. А. Максимович, О. Н. Щебенцовская, Г. В. Рудик,
М. И. Гуменецкая, Г. В. Колодий*

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье проанализированы иммунологические, гистологические и микробиологические показатели организма поросят при применении пробиотических препаратов Probion-forte и Bio plus 2B. В соответствии с полученными результатами, влияние препаратов характеризовалось активацией иммунофизиологических процессов, улучшением видового состава микрофлоры кишечника и стимуляцией секреции пищеварительных желез. В результате проведенных исследований установлено, что максимально эффективным было применение Probion-forte в течение 10 недель в дозе 1,0 г/кг корма.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Самарцев А. А. Новые пробиотики для животноводства / А. А. Самарцев, Н. И. Астанович, Г. И. Новик // Эффективні корми та годівля. — 2007. — № 2 (18). — С. 14–15.
2. Малик Н. И. Пробиотики в промышленном животноводстве / Н. И. Малик, А. Н. Панин, Е. В. Малик // Животноводство. — 2000. — № 3. — С. 10–16.
3. Малик Н. И. Ветеринарные пробиотические препараты / Н. И. Малик, А. Н. Панин // Ветеринария. — 2001. — № 1. — С. 46–51.
4. Шабанова И. Ф. Оценка микробиологической безопасности продуктов питания и пробиотиков методом лазерной флюоресценции / И. Ф. Шабанова, И. Л. Андреев, О. Г. Гапоненко, М. Т. Александров // Клиническое питание — 2007. — № 1–2. — С. 195.
5. Тараканов Б. В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животного / Б. В. Тараканов // Ветеринария. — 2000. — № 1. — С. 47–54.
6. Влізла В. В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.; за редакцією В. В. Влізла. — Львів: СПОЛОМ, 2012. — 764 с.
7. Комплексна оцінка впливу ветеринарних препаратів на морфофункціональний стан імунної системи (Методичні рекомендації) / І. Я. Коцюмбас, Г. І. Коцюмбас, С. М. Голубій та ін. — Львів: ТЗОВ “Видавнича фірма «Афіша»”. — 64 с.
8. Меркулов Г. А. Курс патологической техники / Г. А. Меркулов — Л.: Медицина,

1969. — 423 с.

9. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине [Текст]: справ. пособие / А. Н. Головки, В. А. Ушкалов, В. Г. Скрыпник и др.; ред. А. Н. Головки. — Х: НТМТ, 2007. — 512 с.

10. *Соколов Е. И.* Клиническая иммунология. Руководство для врачей / Е. И. Соколов, П. В. Глан, Т. И. Гришина и др.; под ред. акад. РАМН Е. И. Соколова. — М.: Медицина, 1998. — 272 с.

11. *Коршунов В. М.* Влияние пробиотиков и биотерапевтических препаратов на иммунную систему организма-хозяина / Н. Н. Володин, С. А. Агафонова, О. В. Коршунова // Педиатрия. — 2002. — № 5. — С. 92–100.

12. *Казмирчук В. Е.* Клиническая иммунология и аллергология с возрастными особенностями: учебник / В. Е. Казмирчук, Л. В. Ковальчук, Д. В. Мальцев. — 2-е изд., переработ. и допол. — К.: ВСИ «Медицина», 2012. — 520 с.