

ВПЛИВ ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ НА ІМУНОБІОЛОГІЧНУ РЕАКТИВНІСТЬ ОРГАНІЗМУ БІЛИХ МИШЕЙ ТА КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ

Бібен І.А., к. вет. н., доцент, Сосницький О.І., д. вет. н., професор, Зажарський В.В., к. вет. н., доцент

[e-mail:bibenvet@ukr.net](mailto:bibenvet@ukr.net)

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет
вул. Сергія Єфремова, 25. м. Дніпро, 49600, Україна

Інтенсивний розвиток галузі птахівництва та отримання біобезпечної фізіологічно повноцінної продукції неможливо без створення клінічно здорового птахопоголів'я, спроможного ефективно утілізувати корми за існуючих технологій утримання без використання антибіотиків і ксеногенних препаратів, які довготривало піддаються біодеградації і поступають у харчовий ланцюг з включенням в нього популяції людей.

Сучасні технології утримання та харчування сільськогосподарських тварин та птиці направлені на максимальне використання фізіологічного потенціалу організму продуктивних тварин, з ціллю найбільш повного отримання економічної вигоди від експлуатації їх продуктивного потенціалу. Не фізіологічні односторонні виснажуючі технології промислового птахівництва призводять до розвитку синдрому фізіологічної неповноцінності і імунodefіцитного стану організму птиці, особливо на ранніх етапах її онтогенетичного розвитку.

Зниження життєздатності організму курчат супроводжується і базується на загальній імуносупресії лімфоїдної системи, зниженні потенціалу імунобіологічної резистентності, зменшенні сили імунної відповіді на вакцинальні та інфекційні антигенні подразники, що закономірно призводить до інфекційної патології факторного типу з естафетною і безестафетною передачею збудника інфекції з потенційною патогенністю. Найбільш простим засобом боротьби з банальними інфекціями, які індукуються мікробами-виходу з потенційною патогенністю є масове застосування кормових антибіотиків. Згідно Codex Alimentarium і вимог гуманної фармакопеї, навіть сліди їх є небезпечними і неприпустимими в продуктах харчування людини, особливо дієтичному та для малюків.

Альтернативою використанню антибіотиків є пробіотичні препарати, біотехнологія яких інтенсивно розвивається в останню чверть століття і було створено багато ефективних біопрепаратів медичного та ветеринарного призначення. Всі ці пробіотичні препарати конструювались за традиційними біотехнологічними методиками і класичних мікроорганізмів Мечніковського типу – молочнокислих бактерій, різної видової приналежності та банальних сапрофітах покровних тканин або внутрішніх полостей, які володіли пробіотичною активністю. В нашому дослідженні ми створили синергічну композицію з сінних бацил та аерококу, яких ізолювали від фізіологічно повноцінних тварин з високими відгодівельними кондиціями і значними показниками імунобіологічної резистентності. Пробіотичні прокаріоти, після їх ідентифікації були патентовані і депоновані як Bacillus subtilis BI-12 і Aerococcus viridans BI-07, і вони будуть використані для конструювання, удосконалення і подальшого впровадження в широку практику у вигляді сімбіотичного препарату.

Привентивні випробування експериментального пробіотичного препарату з *Bac. subtilis* BI-12 і *A. viridans* BI-07 виказали його повну біобезпечність для організму ссавців, на моделі – білі миші та для курчат-бройлерів. Пробиотики оказували імуномодулюючий вплив на всі ланки імунної системи, нормалізували інтенсивність імунної відповіді на антигенний стимул, що збільшувало потенціал імунобіологічної резистентності організму та його життєздатність.

Пробіотичні культури *Bac. subtilis* BI-12 і *A. viridans* BI-07 за ентерального введення у дозі $150-200 \times 10^6$ ж.м.к. кожного мікробіонту на голову впродовж першого тижня і потім, з другого тижня і до кінця періоду вирощування – 42 доби, по $250-300 \times 10^6$ ж.м.к. є ефективним біологічним імунокоректором при санації мікробіоценозу кишкової трубки. Наслідком активізації імуногенезу у дослідних курчат-бройлерів є те, що вони володіли більш високими показниками неспецифічної реактивності макроорганізму. Також згодовування пробіотиків стабілізувало і стимулювало важливіші фізіологічні і імунологічні показники організму курчат, активізувало формування клітинної і гуморальної ланки імунітету та призвело до підвищення життєздатності і більш ефективної реалізації продуктивних потенцій організму.

Ключові слова: ПРОБІОТИЧНІ КУЛЬТУРИ, *BACILLUS SUBTILIS* BI-12, *AEROCOCCUS VIRIDANS* BI-07, БІЛІ МИШІ, КУРЧАТА-БРОЙЛЕРИ, ІМУНОЛОГІЧНА РЕАКТИВНІСТЬ, НЕСПЕЦИФІЧНА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ, ГУМОРАЛЬНІ І КЛІТИННІ ФАКТОРИ ІМУНІТЕТУ, ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ.

Актуальність теми. Одним з основних чинників низької життєздатності молодняку сільськогосподарської птиці в умовах інтенсивної технології і щільної посадки є незадовільний рівень імунобіологічного захисту макроорганізму, як невід'ємної функції імунної системи з надзору та підтриманню генетичного гомеостазу внутрішнього середовища індивідуума в онтогенезі. Опосередкують імунобіологічне реагування макроорганізму на дію несингенних факторів зовнішнього і внутрішнього середовища неспецифічні та специфічні механізми імуногенезу [3,7-9,13].

Механізми неспецифічної імунобіологічної резистентності базуються на конституціональних можливостях макроорганізму, обумовлені вродженими біологічними особливостями організму і передаються спадково, тобто вертикально та підрозділяються на фізико-хімічні і фагоцитарні [3,5,6]. До фізичних факторів відносять епітеліальні бар'єри, до хімічних – іони, низькомолекулярні сполуки, прості та складні білкові системи. Фагоцитоз є специфічною формою ендоцитозу, коли еукаріотичні клітини поглинають великі несингенні конгломерати, вони поступають в фагосому, де перетравлюються ферментами лізосом з подальшою деструкцією. Добре виражена фагоцитарна функція у нейтрофілів, моноцитів і макрофагів. Специфічний імунний захист здійснюється лімфоїдною системою, яка складається з синергійної популяції Т- і В-лімфоцитів, об'єднаних у дифузні і структуровані органи імунопоезу [1,3,4,12,13,20].

Для підвищення життєздатності молодняку сільськогосподарської птиці з лікувально-профілактичною ціллю вживають біологічно активні речовини та біопрепарати. В цьому сенсі достатньо ефективними і фізіологічно адекватними та коректними є пробіотичні препарати, які здійснюють імуномодельючий вплив на лімфоїдну систему та загальнобіологічний стимулюючий вплив на організм курчат. [1,3,4,9,10].

Найбільш ефективно пробиотики впливають на організм молодняку тварин, що пов'язано з мікробіальною стерильністю неонатального організму та швидкою колонізацією мікробіотою зовнішнього середовища, коли резидентні мікробіоценози ще не стабілізувались, а реакції імуногенезу формуються і не є досконалыми, тобто імунокомпетентні клітини лімфоїдної системи не комітовані несингенними антигенними детермінантами специфічності в достатньої мірі. Тому використання пробіотичної

мікробіоти дозволяє прискорити зростання молодняку та зменшити смертність. Пробиотики доцільно використовувати замість кормових антибіотиків з першої доби життя курчат та отримання в подальшому біобезпечної і фізіологічно повноцінної продукції птахівництва [1, 4,9,10,12-14,17,19,20].

Використання пробіотиків фізіологічно неповноцінному молодняку попереджає розвиток феномену транслокації умовно-патогенної мікрофлори з кишкової трубки в органи і тканини. При цьому зменшується виділення з внутрішніх органів патогенних мікроорганізмів. Встановлена виражена антагоністична активність пробіотиків проти умовно-патогенної транзитornoї мікробіоти. Також, важливим аспектом пробіотикотерапії є стимуляція імунобіологічної резистентності, тому доцільно використовувати пробиотики у критичні періоди життя молодняку та при стресових впливах на організм, також і біологічних – у вигляді вакцинацій та інфекціогенезу [10,12,13,17-20].

Перспективним напрямком в удосконаленні пробіотичних препаратів є бактеріологічна робота з культурами прокаріот з роду *Bacillus* виду *subtilis* та роду *Aerococcus* виду *viridans*, котрі за сукупністю фізіологічних властивостей та факторів біологічної активності є найбільш придатними для створення ефективних пробіотичних препаратів нового покоління. Ці прокаріоти характеризуються стабільною біологічною безпечністю для макроорганізму, навіть в дуже великих концентраціях, тому що вони є резидентними мікроорганізмами, облігатними співчленами нормомікробіозу внутрішнього середовища тварин. Дуже корисним є їх антагоністична активність у відношенні умовно-патогенних транзитornoї бактерій та здібність проявляти імуномодельюючий вплив на імуногенез, висока ферментативна активність, протиалергічна та антитоксична здібність та інше [4,9,12,].

Особливістю імунної системи молодняку птиці є те, що вона знаходиться в стадії формування та розвитку, що детермінує та створює особливості в реагуванні на антигенний стимул, в тому разі і на антигенні детермінанти специфічності пробіотичних мікроорганізмів. Тому скринінг показників імуногенезу в процесі перманентної кормової дії пробіотичних культур є актуальним та важливим імунологічним дослідженням, яке має певне науково-практичне значення. Для об'єктивної оцінки функціонального стану імунної системи і рівня неспецифічної резистентності макроорганізму під впливом кормового використання пробіотичного препарату необхідно застосувати коректні інструментальні методи лабораторного аналізу, які дозволять визначити імунологічні параметри в нормі та відхиленнях від неї [1,7-9,12,14-18].

Ціль роботи: дослідити вплив пробіотичного препарату з рівних частин бульонних культур прокаріот *Bacillus subtilis BI-12* та *Aerococcus viridans BI-07* на імуногематологічні показники периферичної крові білих мишей та курчат-бройлерів.

Матеріали і методи. Імунологічні дослідження проводили в НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпропетровського ДАЕУ.

В якості пробіотичних культур для виготовлення експериментального біопрепарату використовували прокаріоти *Bac. subtilis BI-12* та *A. viridans BI-07*, ізольовані нами раніше від фізіологічно повноцінних та клінічно здорових тварин.

Морфо-тинкторіальні властивості пробіотичних культур *Bac. subtilis BI-12* та *A. viridans BI-07* контролювали за допомогою рутинних методик. Культивування бактерій здійснювали загальноприйнятими засобами на збагачених простих середовищах: МПБ та МПА на ОПХ (основі перевару Хотінгера) за 37-38 °С впродовж доби.

Кількість живих мікробних клітин (ж.м.к.) пробіотичних культур визначали культуральним методом, посівом десятикратних розведень суспензії прокаріот на елективний поживний агар з наступним підрахунком колоній, які виростили.

Для проведення гематологічних досліджень використовували сироватку крові, стабілізовану 10 % розчином трілона-Б. Для визначення кількості еритроцитів та лейкоцитів проводили фарбування за Фрідом і Лукачовою в модифікації І.А. Болотникова [2].

Вміст гемоглобіну визначали за Салі [11].

Кількісне визначення Т-лімфоцитів курчат проводили за допомогою антитіл, отриманих при імунізації кроликів тимоцитами кур [5].

Кількісне визначення В-лімфоцитів визначали підрахунком мононуклеарів, які несуть мембранні маркери (поверхневі) Ig і рецептори до С₃-компоненту комплементу [5].

Лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК) визначали фотоелектроколориметричним методом за А.Г. Дорофейчуком з тест-культурою *Micrococcus lysodeicticus* [6].

Бактеріцидну активність сироватки крові (БАСК) визначали фотоелектроколориметричним методом за О.В. Сминою та Т.А. Кузьминою [1966] з використанням в якості тест-культури *E. coli*. Метод заснован на ресстрації змін, які відбуваються з оптичною щільністю МПБ при рості в ньому *E. coli* з додавання і без додавання досліджуваної сироватки. Оптична щільність МПБ наростає тим менше, чим сильніша бактеріцидна дія сироватки [6].

Фагоцитарну активність лейкоцитів визначали за використанням культури *S. aureus* штам 209. Цей показник характеризує кількість відсотків активних нейтрофілів, які приймають участь у фагоцитозі. Фагоцитарний індекс (ФІ) – це кількість клітин *S. aureus*, фагоцитованих одним нейтрофілом [6].

Біологічні дослідження на білих мишах виконували загальноприйнятими засобами. Групи мишей формували за принципом аналогів. Тварини були безпородними та нелінійним, живою масою 18-20 г.

Курчат-бройлерів для експерименту відбирали за принципом аналогів, методом неповторної вибірки по 200 голів в дослідну та контрольну групи. Експеримент продовжувався 42 доби, тобто впродовж усього технологічного цикла вирощування курчат-бройлерів на виробництві. Курчатам дослідної групи кожен добу груповим методом вводили в суху кормову суміш пробіотичні бульонні культури *Vac. subtilis BI-12* та *A. viridans BI-07* з розрахунку $150-200 \times 10^6$ ж.м.к. на голову впродовж першого тижня, а потім, з другого тижня і до кінця експерименту по $250-300 \times 10^6$ ж.м.к. Курчата контрольної групи замість пробіотиків, отримували антибактеріальні препарати за традиційною схемою, прийнятою в господарстві-поставщику.

Отримані кількісні експериментальні показники обробляли на РС за допомогою пакету статистичних програм «Statistica» з рівнем значущості не нижче $P \leq 0,05$. Для оцінки вірогідності отриманих даних використовували критерії Ст'юдента та Фішера.

Результати досліджень й обговорення. На дебютному етапі наших досліджень, ми провели орієнтовний експеримент на білих мишах, аби зареєструвати феномен загальнобіологічного позитивного фізіологічного впливу розробленого нами експериментального пробіотичного препарату на макроорганізм теплокровних тварин. Для цього відібрали дві групи аналогових білих мишей, опитну і контрольну, по 40 тварин в кожній. Білим мишам опитної групи впродовж 30 діб задавали *per os* через зонд по 1 см^3 мікс бульонних культур пробіотиків Anapartes. Через 1, 7, 21 і 30 діб піддавали етаназії по 10 мишей з дослідної та контрольної груп, відбирали кров і проводили імунологічні дослідження. Експериментальні дані цих досліджень викладені в таблиці 1.

Таблиця 1

Показники ЛАСК, БАСК, НСТ-теста і ФІ в сироватці крові білих мишей під впливом пробіотиків (n=80; M±m)

Досліджувані	Термін дослідження (доб.)	Контрольні
--------------	---------------------------	------------

показники	1	7	21	30	білі миші
ЛАСК (од. оптич. щільності)	0,38±0,02	0,36±0,01	0,37±0,01	0,38±0,01	0,38±0,02
БАСК (од. оптич. щільності)	0,72±0,2	0,42±0,09	0,92±0,17	1,00±0,01	1,01±0,01
НСТ –тест (од. оптич. щільності)	0,082±0,022	0,080±0,038	0,076±0,023	0,084±0,024	0,086±0,021
ФІ (%)	37,1±0,4	37,4±0,6	35,3±0,5	36,9±0,3	34,8±0,3

Аналізуючи експериментальні дані, наведені в таблиці 1, встановлено, що на 7 добу наблюдали незначне збільшення ЛАСК, а на 30 добу рівень ЛАСК починає співпадати з аналогічними показниками інтактних мишей. Також збільшилась БАСК під впливом пробіотичних прокаріот. Їх стимулювальний вплив зберігався впродовж трьох тижнів, потім наступила нормалізація цього показника по відношенню до ісходної величини. Було відмічено незначне підвищення рівня кислородного метаболізму нейтрофілів у дослідних мишей, після дії пробіотичних культур. Аналогічна ситуація стимулювання в межах фізіологічної норми спостерігалась і з показниками фагоцитарної активності, які опинилась на межі нормергії на 30 добу.

Підводячи підрахунок вищезазначеного, можна стверджувати, що пероральна дія рівномірного мікса бульонних культур пробіотичних бактерій визива фізіологічно нормальну, функціонально повноцінну норергічну стимуляцію імунокомпетентних органів лімфоїдної системи і підвищенню показників неспецифічної імунобіологічної резистентності, що в цілому позитивно вплива на загальнобіологічний стан макроорганізму та його життєздатність.

На підставі позитивних результатів біологічного впливу пробіотичних культур на імунобіологічні показники білих мишей, вирішили вивчити імунологічними показники курчат-бройлерів, після превентивного курсу пробіотикотерапії та загальної санації організму. Для цього провели 42 денний експеримент, коли дві групи курчат вирощували згідно за звичайною технологічною схемою в аналогічних умовах утримання, але дослідним курчатам замість антибіотиків з кормом перманентно згодували пробіотичні культури *Vac. subtilis BI-12* та *A. viridans BI-07*, за розробленою нами схемою. По ходу експеримента відбирали кров і проводили імунологічні дослідження.

Встановлено, що після курсу превентивної пробіотикотерапії у курчат-бройлерів дослідної групи зазначені зміни в морфологічних показниках крові, які варіювали в межах фізіологічної норми, які наведені в даних таблиці 2.

Таблиця 2

Кількісні характеристики морфологічних елементів крові курчат-бройлерів під впливом згодування пробіотиків

Досліджувані клітини крові	1 доба		21 доба		42 доба	
	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль
Базофіли, %	4,06	4,06	4,06	4,06	3,06	3,06
Еозінофіли, %	20,06	20,06	15,8	16,06	12,7	12,93
Псевдоеозінофіли, %	60,1	60,1	39,1	40,03	22,06	22,06
Лімфоцити, %	10,0	10,0	35,0	33,8	57,2	56,9
Моноцити, %	6,05	6,05	6,05	6,05	5,02	5,02

При аналізі кількісних характеристик морфологічних елементів крові курчат-бройлерів дослідної і контрольної груп можна констатувати, що на 21 добу експерименту кількість еозінофілів у курчат дослідної групи зменшилась відносно контролю на 1,6 %, кількість псевдоеозінофілів збільшилась на 2,3 %, а лімфоцитів – на 3,5 %. При цьому виявлена ще і вікова динаміка досліджуваних показників, а саме: в дослідній групі на 21 добу експеримента кількість еозінофілів та псевдоеозінофілів збільшилась на 25 % відносно з кількістю аналогічних клітин в 1 добу. У циплят-бройлерів контрольної групи в той-же час кількість еозінофілів та псевдоеозінофілів зменшилась на 19,9 % і 33,3 %, відповідно, а кількість лімфоцитів збільшилась на 23, 8 % відносно з вихідною кількістю.

На прикінці відгодівельного періоду, на 42 добу, кількість еозінофілів у курчат-бройлерів дослідної групи зменшилась 1,7 % відносно контролю. Кількість псевдоеозінофілів у курчат дослідної і контрольної груп варіювала в однакових межах показників, а кількість лімфоцитів в дослідній групі збільшилась на 0,4 % відносно контролю.

При кількісному порівнянні показників вікової динаміки встановлено, що в дослідній групі на 42 добу експеримента кількість базофілів, еозінофілів, псевдоеозінофілів і моноцитів зменшилась на 24, 6 %, 19,6 %, 43,5 % та 17 % відповідно, а кількість лімфоцитів збільшилась на 63,3 % в порівнянні з кількістю цих клітин на 21 добу дії пробіотиків.

В контрольній групі курчат-бройлерів, на 42 добу експерименту, кількість базофілів, еозінофілів, псевдоеозінофілів і моноцитів зменшилась на 24,6 %, 19,4 %, 44,9 % і 17 % відповідно, а кількість лімфоцитів збільшилась на 63, 4 % в порівнянні з аналогічними клітинами на 21 добу експерименту.

Одночасно з вивченням кількісно-морфологічних характеристик периферичної крові курчат-бройлерів провели і імунологічні дослідження імунокомпетентних клітин, що дає можливість комплексної оцінки стану імунобіологічної реактивності макроорганізму. Результати імунологічних досліджень імунокомпетентності курчат викладені в таблиці 3.

Таблиця 3

Кількісні показники імунологічних досліджень крові курчат-бройлерів ($M \pm m$; $P \leq 0,05$)

Досліджуваний показник	Термін проведення дослідження					
	1 доба		21 доба		42 доба	
	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль
Еритроцити, $10^{12}/л$	1,92±0,28	1,81±0,18	2,54±0,04	2,41±0,33	2,96±0,15	2,41±0,11
Гемоглобін, г/л	88,1±8,6	82,8±7,3	82,1±8,7	78,91±7,3	129,3±1,03	111,3±0,8
Лейкоцити, $10^9/л$	29,8±1,37	31,3±1,38	28,1±2,49	28,41±5,43	38,9±1,36	38,02±2,76
Т-лімфоцити, %	18,3	18,7	32,8	28,9	39,3	32,5
В-лімфоцити, %	30,1	32,3	30,1	29,5	36,9	33,4
Індекс Т/В	0,62	0,59	1,06	0,92	1,09	0,98
Фагоцитарна активність, %	35,3	30,5	45,3	40,5	50,41	37,7
Фагоцитарний індекс	4,53	4,63	5,53	4, 63	3,69	2,76
ЛАСК, %	17,36	19,5	12,36	10,5	25,9	23,56

БАСК, %	28,3	25,4	38,5	35,17	50,71	48,892
---------	------	------	------	-------	-------	--------

Результати імунологічних досліджень, викладені в таблиці 3 свідчать, що кількість еритроцитів і гемоглобну з віком збільшились в дослідній і контрольній групах. Проте у дослідних курчат динаміка позитивних змін була виражена значно більш інтенсивно, а саме: кількість еритроцитів на 42 добу у бройлерів опитної групи була вище на $0,57 \times 10^{12}/л$ (23,3 %), а рівень гемоглобіну – на 16,2 %, в порівнянні з контролем. Ці відмінності сповіщають о більш значном збільшенні кислородної ємкості крові та більш високої насиченості еритроцитів гемоглобіном у бройлерів дослідної групи.

При визначенні потенційних можливостей гуморального імунітету в порівняльному аспекті дослідили ЛАСК і БАСК крові. Експериментальні дані вказують на те, що із збільшення віку збільшується рівень БАСК: так, в дослідній групі на 21 добу БАСК була вище на 35,7 %, а в контролі – на 40,3 % в порівнянні з вихідними даними. На прикінці експерименту спостерігалось подальше підвищення показників: в дослідній групі на 32,03 %, в контролі – на 39,05 % в порівнянні з показниками 21 доби. При цьому в дослідній групі курчат-бройлерів БАСК була вище на 3,7 % в порівнянні з контролем.

При дослідженні динаміки показників ЛАСК виявлені декілько інші закономірності імунобіологічного реагування. Так, на 21 добу ЛАСК знизилась в дослідній і контрольній групах в порівнянні з вихідними даними, а на 42 добу зафіксували підвищення показника: в дослідній групі в 2,1 рази, а в контрольній – в 2,2 рази в порівнянні з віком 21 доби. В кінці періоду вирощування ЛАСК у дослідних курчат була на 10 % вища, ніж в контролі у інтактних курчат.

Враховуючи, що рівень функціональної активності клітин моноклеарної фагоцитуючої системи є одним з найважливіших показників неспецифічної резистентності макроорганізму, особливу увагу приділили аналізу показників фагоцитарної активності нейтрофілів. Саме вони першими взаємодіють з несингенними антигенними субстанціями, відіграють суттєво значущу роль в протийнфекційному захисті макроорганізму, тому супресія фагоцитарної активності імунокомпетентних клітин імунної системи призводить до зниження імунобіологічної резистентності організму тварин.

В результаті імунологічних досліджень встановили, що фагоцитарна активність нейтрофілів була вище у дослідних курчат і цей показник мав стабільне значення. Також цей показник мав і вікову динаміку варіації: підвищення в дослідній групі у віці 21 доби становило 28,4 %, а до 42 доби – 11,5 %. В кінці експеримента в дослідній групі фагоцитарна активність нейтрофілів складала 50,4 % і була достовірно вище, ніж в контрольній групі, де дорівнювала 37,6 %. Також в дослідній групі був вищий фагоцитарний індекс, який дорівнював 3.68, а в контролі цей показник дорівнював 2,75. Все це вказує на те, що у курчат-бройлерів дослідної групи була більш висока поглинальна активність нейтрофілів.

При дослідженні клітинної ланки імунітету встановили, що кількісні показники Т-лімфоцитів у всіх курчат на початку досліда були нижче фізіологічної норми, при цьому в дослідній групі вміст Т-лімфоцитів був на 0,4 % нижчим, а В-лімфоцитів – на 2,4 % нижчим, ніж аналогічний показник в контролі.

На 42 добу експеримента в периферичній крові курчат дослідної групи вміст Т-лімфоцитів був достовірно вищим, на 6,8 % ніж в контролі, де даний показник був нижче за норму. Вміст В-лімфоцитів у периферичній крові дослідних курчат був на 3,6 % вище в порівнянні з інтактними. Індекс Т- і В-лімфоцитів у дослідних курчат наприкінці експеримента нормалізувався до стану фізіологічної норми і склав 1,08, що на 11 % вище, ніж в контролі.

Резюмую експериментальні дані морфологічного і імунологічного дослідження периферичної крові в порівняльному аспекті у курчат-бройлерів, які отримували і не отримували з кормом експериментальний пробіотичний препарат, встановлено, що

біопрепарат володіє імуномодулюючими властивостями, індуцируя активізацію імуногенезу у дослідних курчат-бройлерів, і в наслідок стимуляції імуногенезу, дослідні курчата-бройлери володіли більш високими показниками неспецифічної імунобіологічної резистентності макроорганізму. Дія пробіотиків стабілізує і стимулює важливіші фізіологічні і імунологічні показники організму курчат, активізують формування клітинної і гуморальної ланки імунітету.

За совокупністю фізіолого-біохімічних властивостей і факторів біологічної активності перспективними для створення пробіотиків з неіндігенної бациллярної мікрофлори виявились *Bacillus subtilis*. Ці сапрофітні бацили-антракоїди володіють вираженими антагоністичними властивостями у відношенні до різних сочленів мікробіоценозів, стабільно висіваються з різноманітних біотопів, в тому числі з органів і тканин теплокровних тварин, а також комах та рослин, при цьому не викликають в об'єктах переживання патологічних уражень. Виявлена здатність бацил підвищувати рівень імунітету до інфекційних захворювань, тому що вони індукують синтез ендogenous інтерферону. Продукти біосинтезу мікробних культур сапрофітних бацил-сапрофітів є нативними стимуляторами росту молодняку, оптимізують мікробний пейзаж товстого відділу кишок.

Ще одним дуже корисним резидентним мікробіонтом є *Aerococcus viridans* – облігатний представник нормальної мікрофлори здорової тварини, які населяють ЖКТ, респіраторні і репродуктивні органи, а також об'єкти зовнішнього середовища. Аерококи постійно висіваються з навозу та продуктів харчування. В нормальному стані вони завжди є на шкірі та слизових оболонках.

Дуальне використання цих прокариот у вигляді миксу бактеріальних культур Анапарте є виключно ефективно при підвищенні життєздатності організму курчат-бройлерів і дозволяє повністю відмовитись від використання кормових антибіотиків на користь пробіотиків. При сімультанному застосуванні спостерігається синергійний ефект біовпливу спорозонних бацил і неспорозонних, екологічно пластичних аерококів. Мікс-культура пробіотиків добре приживається в організмі і оказує сумарне позитивне імуномодулюючий та саніруючий вплив на організм курчат, підвищуючи загальноорганізменну резистентність і життєздатність.

За сокопністю елементів позитивного впливу на організм дослідних курчат-бройлерів логічно виникає висновок про те, що використання пробіотичного препарату фізіологічно доцільно, економічно вигідно і епізоотологічно коректно.

ВИСНОВКИ

1. Експериментальний пробіотичний препарат, представлений рівною сумішшю бульонних культур *Bacillus subtilis* штам *BI-12* і *Aerococcus viridans* штам *BI-07* при пероральному застосуванні оказує загальнобіологічний позитивний вплив на теплокровних тварин, ссавців і птицю, стимулюючи в межах фізіологічної норми імунобіологічну реактивність макроорганізму, підвищує фізіологічні потенції, життєздатність та резистентність тварин до умовно-патогенної банальної мікрофлори

2. Відсутність патологічних змін та відхилень від фізіологічної норми в дослідній групі курчат-бройлерів з одночасним стимулюванням імунобіологічної реактивності та фізіологічних потенцій організму свідчить о безпечності препарату і його позитивному впливу на життєвоважливі функції макроорганізму, що є прямим доказом до його застосування, як фізіологічно коректної альтернативи антибіотикам та імуномодератора.

3. У ссавців, на лабораторній моделі білої миші встановили, що пероральне застосування суміші пробіотичних культур *Bacillus subtilis* штам *BI-12* і *Aerococcus viridans* штам *BI-07* призводить до слабкої, функціонально повноцінної нормергічної стимуляції імунокомпетентних клітин імунної системи і підвищенню показників неспецифічної

імунобіологічної резистентності, що в цілому оказує позитивний вплив на фізіологічний стан організму. Імуномодуючий вплив продовжується фізіологічно необхідний термін, у данному разі – три тижні, до нормалізації показників імунобіологічної резистентності.

Перспективи подальших досліджень.

Отримання фізіологічно повноцінної та біобезпечної продукції птахівництва за інтенсивних технологій утримання, під впливом масових і виснажуючих біостресорів, перманентних інфекційних патологій факторного типу з синдромом пневмоентериту та порушень репродуктивної функції, на фоні нефізіологічних умов утримання та кормопостачання призводять до негативного впливу на організм, імунодепресії, зниження життєздатності, продуктивності, оплаті кормів і неефективності виробництва в цілому.

Одним з край негативних явищ рутинної технології виробництва є використання кормових антибіотиків. Альтернативою цієї пагубної практики є превентивна і перманентна пробіотикотерапія. Використання пробіотичних мікроорганізмів є перспективним і фізіологічно коректним методом санації організму ссавців та птиці. В теперішній час цей напрямок біотехнології інтенсивно розвивається, створюються різноманітні біопрепарати.

У нашій роботі ми апробували оригінальну суміш пробіотичних культур *Bac. subtilis* штам ВІ-12 і *A. viridans* штам ВІ-07 при пероральному згодовуванні і експериментальним шляхом встановили їх загальнобіологічний позитивний вплив на теплокровних тварин, ссавців і птахів. Пробиотики стимулювали в межах фізіологічної норми імунобіологічну реактивність макроорганізму і підвищували фізіологічний потенціал організму тварин, ссавців і птахів. Важливим напрямком досліджень є розробка фармакологічної форми біопрепарату, відпрацювання оптимальної дози пробіотичних прокаріот для різного фізіологічного стану макроорганізму.

Окремим, дуже важливим і досить складним є розробка методології глибинного культивування в ферментерах з регульованими параметрами вирощування, для отримання значних кількостей пробіотическої сировини. Також необхідно опрацювання симбіотичних компонентів, що стимулюють колонізаційні і ростові потенції мікробіонтів у внутрішньому середовищі макроорганізму.

INFLUENCE OF THE PROBIOTIC PREPARATION ON THE IMMUNOBIOLOGICAL REACTIVITY SISTANCE OF THE ORGANISM OF WHITE MICE AND CHICKEN-BROILERS

Biben I.A., Sosnitskiy A.I., Zazharsky V.V.
25, Efremova street, Dnipro, 49600, Ukraine

S U M M A R Y

Intensive development of the poultry industry and obtaining biosafety physiologically complete products is impossible without the creation of a clinically healthy poultry head capable of efficiently utilizing fodders in existing containment technologies without the use of antibiotics and xenogenic drugs that are difficult to biodegrade and enter the food chain to include a human population.

Modern technologies of keeping and feeding agricultural animals and poultry are aimed at maximizing the utilization of the physiological potential of the organism of productive animals in order to maximize the economic benefit from exploiting their productive potential. Nonphysiological unilateral exhausting technologies of industrial poultry farming lead to the development of the syndrome of physiological inferiority of the poultry organism, especially in the early stages of its ontogenetic development. This is accompanied by the generation of

immunosuppression, a decrease in the potential of immunobiological resistance, weakening the strength of the immune response to vaccinal and infectious antigenic irritations and naturally leads to factor-type infectious pathology with relay and without relay transmission of the infectious agent. The simplest way to suppress the infectious pathology of microbial-induced yields with potential pathogenicity is a massive permanent feeding of feed antibiotics, even traces of which are unacceptable in human food, especially in dietary and infant food.

An alternative to the use of antibiotics are probiotic drugs, the biotechnology of which has been intensively developed in the last quarter of a century and numerous biologics for medical and veterinary purposes have been obtained. All these probiotic drugs are constructed on the basis of traditional biotechnology techniques and microorganisms - lactic acid bacteria, various species and banal saprophytes of integumentary tissues or internal cavities with probiotic activity. In our work, we created a synergistic composition of hay bacillus and aerococcus isolated from physiologically valuable animals with high fattening conditions and high immunobiological resistance. Probiotic prokaryotes after identification have been patented and deposited as *Bacillus subtilis* BI-12 and *Aerococcus viridans* BI-07 and will be used for the design, improvement and further integration into a wide practice as a symbiotic preparation.

Preliminary tests of the experimental probiotic preparation showed its complete biosafety for the mammalian organism, on the white mouse model and for broiler chickens. Probiotics exert an immunomodulatory effect on all parts of the immune system, normalizing the intensity of the immune response to the antigenic stimulus, and thereby increasing the immunobiological resistance of the organism and its viability.

Probiotic cultures of *Bacillus subtilis* BI-12 and *Aerococcus viridans* BI-07 with enteral cottage in a dose of $150-200 \times 10^6$ mc. Of each microbiont on the head during the first week and then, from the second week to the end of the growing period, 42 days, $250-300 \times 10^6$ mc. Is an effective biological immunocorrector in the sanation of the intestinal microbiocenosis, as with enteral administration for 42 days, it has a pronounced inhibitory effect on the intestinal rod of broiler chickens, as are the indigenous representatives of the intestinal microbiocenosis. Due to the activation of immunogenesis in experimental broiler chickens, it is because they have higher rates of nonspecific immunobiological reactivity of the macroorganism. Also, giving probiotics to the inside stabilizes and stimulates the most important physiological and immunological indices of the chickens organism, activates the formation of the cellular and humoral links of immunity, leads to a pronounced increase in viability and more effective realization of the productive potencies of the organism.

Key words: PROBIOTIC CULTURES, BACILLUS SUBTILIS BI-12, AEROCOCCUS VIRIDANS BI-07, WHITE MICE, BROILER CHICKENS, IMMUNOBIOLOGICAL REACTIVITY, NONSPECIFIC RESISTANCE, HUMORAL AND CELLULAR IMMUNITY FACTORS, VIABILITY.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКУЮ РЕАТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА БЕЛЫХ МЫШЕЙ И ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Бибен И.А., Сосницкий А.И., Зажарский В.В.

[e-mail:bibenvet@ukr.net](mailto:bibenvet@ukr.net)

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет
ул. Сергея Ефремова, 25. г. Днепр, 49600, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

Интенсивное развитие отрасли птицеводства и получение биобезопасной физиологически полноценной продукции невозможно без создания клинически здорового птицепоголовья, способного эффективно утилизировать корма при существующих технологиях содержания без использования антибиотиков и ксеногенных препаратов, трудно поддающихся биодеградации и поступающих в пищевую цепь с включением в нее человеческой популяции.

Современные технологии содержания и кормления сельскохозяйственных животных и птицы направлены на максимальное использование физиологического потенциала организма продуктивных животных, с целью наиболее полного извлечения экономической выгоды от эксплуатации их продуктивного потенциала. Нефизиологические односторонние истощающие технологии промышленного птицеводства приводят к развитию синдрома физиологической неполноценности и иммунодефицитного состояния организма птицы, особенно на ранних этапах ее онтогенетического развития.

Снижение жизнеспособности организма цыплят сопровождается и базируется на общеорганизменной иммуносупрессии лимфоидной системы, снижением потенциала иммунобиологической резистентности, ослаблением силы иммунного ответа на вакцинальные и инфекционные антигенные раздражения, что закономерно приводит к инфектопатологии факторного типа с эстафетной и без эстафетной передачей возбудителя инфекции с потенциальной патогенностью. Простейшим способом подавления банальной инфекционной патологии индуцированной микробами-выхода с потенциальной патогенностью является массированная перманентная дача кормовых антибиотиков. В соответствии с Codex alimentarium и требованиями гуманной фармакопеи даже следы их являются небезопасными и недопустимыми в продуктах питания человека, особенно в диетическом и детском.

Альтернативой использованию антибиотиков являются пробиотические препараты, биотехнология которых интенсивно развивается в последнюю четверть века и получены многочисленные биопрепараты медицинского и ветеринарного назначения. Все эти пробиотические препараты конструируются на основе традиционных для биотехнологии методиках и классических микроорганизмах Мечниковского типа – молочно-кислых бактериях, различной видовой принадлежности и банальных сапрофитах покровных тканей или внутренних полостей, обладающих пробиотической активностью. В нашей работе мы создали синергидную композицию из сенной бациллы и аэрококка, изолированных от физиологически полноценных животных с высокими откормочными кондициями и высокими показателями иммунобиологической резистентности. Пробиотические прокариоты после идентификации были патентованы и депонированы как *Bacillus subtilis BI-12* и *Aerococcus viridans BI-07* и будут использоваться для конструирования, совершенствования и дальнейшего внедрения в широкую практику в виде симбиотического препарата.

Предварительные испытания экспериментального пробиотического препарата показали его полную биобезопасность для организма млекопитающих животных, на модели белая мышь и для цыплят-бройлеров. Пробиотики оказывали иммуномодулирующее воздействие на все звенья иммунной системы, нормализуя интенсивность иммунного ответа на антигенный стимул, и тем самым повышая иммунобиологическую резистентность организма и его жизнеспособность.

Пробиотические культуры *Bacillus subtilis BI-12* и *Aerococcus viridans BI-07* при энтеральной даче в дозе по $150-200 \times 10^6$ ж.м.к. каждого микробионта на голову в течение первой недели и затем, со второй недели и до конца периода выращивания – 42 суток, по $250-300 \times 10^6$ ж.м.к. является эффективным биологическим иммунокорректором при санации микробиоценоза кишечника, так как при энтеральном введении в течении 42 суток оказывают выраженное ингибирующее воздействие на банальную микрофлору цыплят-бройлеров, как индигенные представители нормомикробиоты. Следствием активизации

иммуногенеза у опытных цыплята-бройлеров является то, что они обладают более высокими показателями неспецифической иммунобиологической реактивности макроорганизма. Также дача пробиотиков внутрь стабилизирует и стимулирует важнейшие физиологические и иммунологические показатели организма цыплят, активизирует формирование клеточного и гуморального звена иммунитета, приводит к выраженному повышению жизнеспособности и более эффективной реализации продуктивных потенций организма.

Ключевые слова: ПРОБИОТИЧЕСКИЕ КУЛЬТУРЫ, *BACILLUS SUBTILIS BI-12*, *AEROCOCCUS VIRIDANS BI-07*, БЕЛЫЕ МЫШИ, ЦЫПЛЯТА-БРОЙЛЕРЫ, ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ, НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ, ГУМОРАЛЬНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ ИММУНИТЕТА, ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Анганова Е.В. Условно-патогенные энтеробактерии: доминирование популяции, биологические свойства, медико-экологическая значимость: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.02.03 «Микробиология» [Текст] / Е.В. Ангалова. – Иркутск, 2012. – 44 с.
2. Болотников И.А. Практическая иммунология сельскохозяйственной птицы / И.А. Болотников, Ю.В. Конопатов // СПб.: Наука, 1993.
3. Воронин Е.С. Иммунология / Е.С. Воронин, А.М. Петров, М.М. Серых, Д.А. Дервишов. Под. ред. Е.С. Воронина. – М.: Колос-Пресс, 2002. – 408 с.
4. Малик Н.И. Новые пробиотические препараты ветеринарного назначения: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – М., 2002. – 42 с.
5. Новиков Д.К. Клеточные методы иммунодиагностики / Д.К. Новиков, В.А. Новикова // - Минск: Беларусь, 1979. – С. 180-223.
6. Определение естественной резистентности и обмена веществ у сельскохозяйственных животных / В.Е. Чумаченко, А.М. Высоцкая, Н.А. Сердюк, В.В. Чумаченко // - К.: Урожай, 1991. – 136 с.
7. Павлова Н.В. Значение нормальной микрофлоры пищеварительного тракта птиц для их организма / Н.В. Павлова, Ф.С. Киржаев, Р. Лапинскайте // Био. журнал для специалистов птицеводческих и животноводческих хозяйств – 2002. - № 2. – С. 4-8.
8. Панин А.Н. Формирование кишечного микробиоценоза у цыплят / А.Н. Панин, Н.И. Малик, И.П. Степаненко // Ветеринария. – 2000. - № 7. – С. 23-26.
9. Пробиотики и пребиотики [Электронный ресурс] / [F. Guarner, G. A. Khan, J. Garisch та ін.] // World Gastroenterology Organisation. – 2008. – Режим доступа до ресурсу: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-russian-2008.hdf>.
10. Сидоров М.А. Нормальная микрофлора животных и ее коррекция пробиотиками / М.А.Сидоров, В.В. Субботин, Н.В. Данилевская // Ветеринария. – 2000. - № 11. – С. 17-22.
11. Симонян Г.А. Ветеринарная гематология / Г.А. Симонян, Ф.Ф. Хисамутдинов // М.: Колос, 1995. – 256 с.
12. Шевелева М.А. Современные представления о применении различных групп пробиотических средств при антибиотикотерапии / М.А. Шевелева, Г.Р. Раменская // Антибиотики и химиотерапия. – 2009. – Т. 54. - № 3,4. – С. 66-74.
13. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. – К.: Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.
14. Duval-Iflah Y.S. Comparison of yogurt, heat-treated yogurt, milk and lactose effects on plasmid dissemination in gnotobiotic mice. *Ant. Van Leeu. Int. // J. Gen. and Mol. Microbiol.* – 2001. – Vol. 79. - №2. – P. 199.

15. Khan, M. Growth-promoting effects of single-dose intragastrically administered probiotics in chickens [Text] / M. Khan, D. Raouf, H. Richeta // *British Poultry Science*. – 2007. - № 48 (6). – P. 732-735.
16. Pelucchi, C. Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis [Text] / C. Pelucchi, L. Chatenoud, F. Turati e. a. // *Epidemiology*. – 2012. - № 23 (3). – P. 410-414.
17. Probiotic properties of industrial strains of lactobacill and bifidobacteria [Text] / N.K. Kovalenko, O.P. Livins'ka, O.A. Poltavs'ka [] // *Mikrobiol. Z.* – 2010. - № 72 (1). – P. 9-17.
18. Spring P. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks / P. Spring, C. Wenk, K.A. Dawson et al. // *Poultry Science*. – 2000. – Vol. 79. – P. 205-211.
19. Sazawal, S. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials [Text] / S. Sazawal, G. Hiremath, U. Dhingra e.a. // *Lancet Infect. Dis.* – 2006. - № 6. – P. 374-382.
20. West, N.P. Probiotics, immunity and exercise: a review [Text] / N.P. West, D.B. Pyne, J.M. Peake e.a. // *Exers. Immunol. Rev.* – 2009. - № 15 (107). – P. 107-126.