

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ**

На правах рукопису

МЕЛЬНИЧЕНКО ЮЛІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 604.4:636.087.8:636.5-053.2

**БІОТЕХНОЛОГІЯ ОДЕРЖАННЯ ПРОБІОТИЧНОЇ
ДОБАВКИ ТА ЇЇ ВИКОРИСТАННЯ ЗА ВИРОЩУВАННЯ
КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ**

03.00.20 – біотехнологія

Дисертація

на здобуття наукового ступеня

кандидата сільськогосподарських наук

Науковий керівник – доктор

сільськогосподарських наук, професор

В.С. Бітюцький

Біла Церква 2016

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ | 4 |
| ВСТУП..... | 5 |
| 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ | 10 |
| 1.1. Сучасні уявлення щодо пробіотиків..... | 10 |
| 1.2. Бактеріальна флора кишечника сільськогосподарської птиці: основні відомості | 15 |
| 1.3. Біотехнологія мікробних препаратів та критерії підбору пробіотичних штамів мікроорганізмів..... | 22 |
| 1.4. Імуномодулювальна дія пробіотичних штамів | 26 |
| 1.5. Застосування пробіотиків у тваринництві та птахівництві | 30 |
| 2. ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА І ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ | 37 |
| 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ | 45 |
| 3.1. Скринінг штамів лакто- та біфідобактерій з метою створення пробіотичних добавок з поліфункціональними властивостями | 47 |
| 3.2. Дослідження показників функціонально-метаболічної активності макрофагів перитонеальної порожнини мишей | 49 |
| 3.3. Вплив нових пробіотичних штамів бактерій на продукцію інтерферону | 53 |
| 3.4. Одержання пробіотичних добавок Пробіфід та Лактокас | 61 |
| 3.5. Вплив пробіотичних препаратів на морфобіохімічні показники та продуктивність курчат-бройлерів | 67 |
| 3.6. Вплив комплексу пробіотичних добавок на біохімічні, імунологічні та антиоксидантні показники курчат-бройлерів..... | 71 |
| 3.7. Склад мікрофлори кишечника курей-бройлерів за застосування поліфункціональних пробіотиків | 74 |
| 3.8. Вплив нових функціональних пробіотичних добавок на продуктивність курчат-бройлерів | 81 |

| | |
|---|-----|
| 3.9. Економічна ефективність використання пробіотичного комплексу у виробництві м'яса бройлерів | 89 |
| 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ | 91 |
| ВИСНОВКИ | 113 |
| ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ | 116 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ | 117 |
| ДОДАТКИ | 142 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

MRS – середовище Man-Rogosa-Sharpe

-S-S- – дисульфідна група

TLR – toll-like receptors

АлАТ – аланінамінотрансфераза

АсАТ – аспартатамінотрансфераза

ІФН – інтерферон

МФПЕ – макрофаги перитонеального ексудату

ПР – пробіотичний препарат

ТАГ – триацилгліцерол

ФІ – фагоцитарний індекс

ФР – фагоцитарний резерв

ФЧ – фагоцитарне число

ХС – холестерол

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ВСТУП

Актуальність теми. Заборона застосування кормових антибіотиків у годівлі тварин та птиці в країнах Європи спонукала вчених до пошуку альтернативних, безпечних та ефективних кормових добавок, які запобігали б колонізації патогенної і умовно-патогенної кишкової мікрофлори та розвитку захворювань [18, 19, 37, 124, 157]. В умовах промислового ведення тваринництва та птахівництва найбільш економічно вигідним є застосування препаратів на основі речовин природного походження, що мають ефективну антагоністичну дію стосовно збудників інфекційних хвороб і здатність балансувати імунну відповідь. Такими препаратами є новітні пробіотики, одержані на основі представників нормальної коменсальної мікрофлори – лакто- та біфідобактерій – з антибактеріальними та імуномодулювальними властивостями [41, 209].

З розвитком сучасних біотехнологій одним із актуальних напрямів є створення комплексних пробіотичних добавок, що складаються з декількох різних штамів і видів мікроорганізмів. Така тенденція стає дуже перспективною, оскільки ці штами, доповнюючи один одного, виявляють більш ефективну синергічну, профілактичну та метаболічну дію, порівняно з монотерапією [11, 210].

Сучасні вимоги європейського регуляторного законодавства в галузі пробіотиків передбачають необхідність проведення всебічних досліджень біологічної активності як окремих пробіотичних культур, так і їх поєднань під час створення пробіотичних добавок на основі монокультур лакто- та біфідобактерій чи їх різних комбінацій [65]. Невивченими залишаються питання скринінгу потенційних штамів, одержання та використання на основі відібраних штамів поліфункціональних пробіотичних добавок з антибактеріальними, імуно- та холестеролмодулювальними властивостями.

Тому одержання сучасних поліфункціональних пробіотичних добавок та їх застосування для профілактики й лікування захворювань сільськогосподарських тварин і птиці є актуальним завданням сьогодення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Наукова робота є фрагментом Державної теми: “Вивчення інтерферогенних та імуномодулювальних властивостей потенційних пробіотичних препаратів” (№ держреєстрації 0110U001874), яку виконували в НДІ екології та біотехнології у тваринництві Білоцерківського національного аграрного університету впродовж 2011–2014 років.

Мета і завдання досліджень. Метою дисертаційної роботи є розробка й одержання нових поліфункціональних пробіотичних добавок на підставі оцінки придатності різних штамів мікроорганізмів та вивчення ефективності їх використання за вирощування курчат-бройлерів.

Для досягнення мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести пошук потенційно пробіотичних штамів лакто- і біфідобактерій з імуномодулювальними властивостями та перевірити їх ефективність на лабораторних тваринах;
- з'ясувати інтенсивність імуномодулювальних властивостей бактерій з функціонально-метаболическими характеристиками для відбору найбільш ефективних штамів;
- оцінити вплив кожного з відібраних штамів окремо та в комплексі на збереженість та продуктивність курчат-бройлерів;
- розробити технологічну схему одержання пробіотичних добавок на основі відібраних штамів;
- одержати пробіотичні добавки Лактокас і Пробіфід, розробити настанови по застосуванню та Технічні умови;
- дослідити вплив пробіотичних добавок на біохімічні, імунологічні, мікробіологічні показники, продуктивність, збереженість курчат-бройлерів та якість отриманої продукції птахівництва;

- провести виробничу апробацію та визначити економічну ефективність застосування комплексу пробіотиків за вирощування курчат-бройлерів;
- розробити методичні рекомендації щодо використання добавок Лактокас та Пробіфід для курчат-бройлерів.

Об'єкт дослідження – розробка біотехнологічних підходів до оцінювання властивостей пробіотичних штамів для біотехнологічного виробництва кормових добавок, ефективність кормових добавок Лактокас та Пробіфід.

Предмет дослідження – імуномодулювальна дія пробіотичних штамів, вплив добавок та їх комплексу на біохімічні, мікробіологічні, імунологічні та зоотехнічні показники курчат-бройлерів.

Методи досліджень: біотехнологічні, біохімічні, імунологічні, мікробіологічні, фізико-хімічні, зоотехнічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше розроблено біотехнологію одержання нових вітчизняних пробіотичних добавок на основі лакто- та біфідобактерій з антибактеріальними, імуномодулювальними та холестеролзнижувальними властивостями. Науково обґрунтовано й експериментально підтверджено доцільність використання добавок Лактокас та Пробіфід за вирощування курчат-бройлерів з метою підвищення їх збереженості та продуктивності. Доведено здатність створених пробіотичних добавок зменшувати кількість патогенної та умовно-патогенної мікрофлори в шлунково-кишковому тракті за їх роздільного й спільного використання. Встановлено, що використання добавок Лактокас та Пробіфід, кожного окремо або в складі композиції, сприяло нормалізації показників імунореактивності організму лабораторних тварин і птиці, підвищенню продуктивності та збереженості курчат-бройлерів.

Наукова новизна одержаних результатів підтверджена затвердженням Технічних умов України на пробіотичні добавки Лактокас та Пробіфід.

Практичне значення одержаних результатів. На підставі оцінки придатності різних штамів мікроорганізмів розроблено нові поліфункціональні пробіотичні добавки Лактокас та Пробіфід. Розроблені та затверджені настанови щодо їх застосування, де регламентовано дозування цих добавок, терміни використання та наведена методологія проведення досліджень, необхідних для ефективного реалізації генетичного потенціалу птиці. Додавання кормової пробіотичної добавки у складі комбікорму підвищує валовий приріст птиці на 10,9 %, збереженість поголів'я на 3,7, знижує собівартість 1 кг приросту маси на 4,3 %, зменшує витрати комбікормів із розрахунку на 1 кг приросту живої маси на 5,9 %, сприяє одержанню додаткової продукції та зростанню рівня рентабельності вирощування курчат-бройлерів на 6,2 %.

Результати досліджень, викладені в дисертаційній роботі, увійшли до “Методичних рекомендацій щодо застосування пробіотичних добавок Лактокас та Пробіфід за вирощування курчат-бройлерів”, які можуть бути застосовані в науково-дослідних роботах і практиці промислового птахівництва. Матеріали наукової роботи використовують у навчальному процесі та науковій роботі на кафедрах: біотехнології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького; паразитології, ветеринарно-санітарної експертизи та зоогієни Житомирського національного агроекологічного університету; годівлі с.-г. тварин та водних біоресурсів Вінницького національного аграрного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проаналізовано літературні джерела за темою дисертації, разом з науковим керівником розроблені схеми лабораторних та виробничих досліджень, власноруч проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку й аналіз одержаних результатів, їх обґрунтування та формулювання висновків. Основні експериментальні результати було отримано дисертантом особисто в НДІ екології та біотехнології Білоцерківського національного аграрного університету. Визначення імунологічних показників проведено

разом зі співробітниками відділу проблем інтерферону й імуномодуляторів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Дослідження мікробіологічних показників проводили разом зі співробітниками ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок (м. Львів). З експериментальних досліджень і публікацій зі співавторами використана, за їх згодою, частка результатів, які одержані особисто дисертантом, а внесок у спільні дослідження зазначено у списку публікацій.

Апробація результатів досліджень. Основні результати дисертаційної роботи доповідалися на міжнародних науково-практичних конференціях: “ЕРМА-World Congress” (Brussels, Belgium, 2013); “Научная дискуссия: инновации в современном мире” (Москва, 2014); United European Gastroenterology Week (Barcelona, Spain, 2015); “Екологічні проблеми сучасного світу та шляхи їх вирішення” (Біла Церква, 2015); “Генетика, розведення та селекція тварин: актуальні проблеми та перспективи розвитку” (Біла Церква, 2015); “Проблеми годівлі тварин в умовах високоінтенсивних технологій виробництва і переробки продукції тваринництва” (Біла Церква, 2015); “Наукові пошуки молоді у III тисячолітті” (Біла Церква, 2013–2015); на державних науково-практичних конференціях: “Екологічні проблеми України та шляхи їх вирішення” (Біла Церква, 2013–2015).

Публікації. Матеріали дисертаційної роботи відображено у 22 наукових працях, із них: 7 статей (6 – у фахових виданнях України та 1 в іноземному журналі), 12 – тези доповідей конференцій та 1 методичні рекомендації; одержано 2 ТУ У на кормові добавки Лактокас та Пробіфід.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел, додатків. Робота викладена на 152 сторінках комп’ютерного тексту (основна частина – 120 сторінок), ілюстрована 24 таблицями та 12 рисунками. Список використаних джерел включає 230 найменувань, з яких 124 – латиницею.

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення щодо пробіотиків

На сьогодні згідно з визначенням ВООЗ (WHO, 2009 р.) пробіотики – апатогенні для людини й тварин бактерії, які мають антагоністичну активність щодо патогенних і умовно-патогенних бактерій та забезпечують відновлення нормальної мікрофлори [28].

Найчастіше як пробіотичний штам використовують біфідобактерії і молочнокислі бактерії, зокрема лактобацили [17, 18, 21, 27, 36, 71, 76, 189]. Ці пробіотики називають класичними, оскільки вони засновані на штаммах, що домінують у різних біотопах людини і тварин, починаючи з перших днів життя [11, 29, 61]. Таким мікроорганізмам властива висока здатність до колонізації епітелію, що служить захисним бар'єром на шляху проникнення патогенної мікрофлори і, у свою чергу, забезпечує стабілізацію нормального складу мікробіоценозу за рахунок закислення середовища та синтезу антибіотичних речовин. Потрапляючи у сприятливі умови, лактобацили і біфідобактерії розмножуються й продукують багато біологічно активних речовин (органічні кислоти, ліпіди, провітаміни, антибіотики, імуномодулятори тощо), тим самим підвищуючи неспецифічну резистентність організму господаря [7, 25, 26, 55, 75, 99, 103, 108, 109, 149, 155, 199].

Пробіотики широко застосовують для профілактики дисбактеріозів молодняку сільськогосподарських тварин і птиці [14, 32, 90, 114]. Шлунково-кишкові захворювання неінфекційної етіології серед молодняку тварин і птиці досить поширені й супроводжуються важкими токсичними явищами, високою смертністю та завдають значних економічних збитків господарствам. Проблема профілактики та лікування патології шлунково-кишкового тракту у тварин і птиці, збудниками яких є умовно-патогенні кишкові мікроорганізми, має не тільки економічне, але й соціальне значення. Так, за даними наукової літератури, економічні збитки від

сальмонельозу в США оцінюються в 2 млрд доларів, у Канаді – 300 млн доларів на рік. У країнах СНД за останні 15 років захворюваність людей та птиці сальмонельозом зросла в 7 разів, при цьому етіологічний показник *S. enteritidis* щодо захворювання людей зріс на 30 %, у тварин і птиці – на 75, а локалізація збудника в продуктах харчування збільшилася на 50 % [37, 68]. Запобігти розвитку багатьох патологічних процесів у тварин дозволяє використання кормів, збагачених біологічно активними кормовими пробіотичними добавками [10, 37, 80, 142, 145, 150, 166, 169, 226].

Останніми роками велику увагу дослідників привертає розробка кормових добавок з використанням живих культур мікроорганізмів, так званих пробіотичних продуктів. Стратегія щодо створення цих продуктів спрямована, перш за все, на забезпечення фізіологічної потреби організму тварин у біологічно активних речовинах [80, 121, 216].

Таким чином, аспекти використання пробіотиків у ветеринарії охоплюють досить широке коло проблем, починаючи від корекції кишкового біоценозу, і розповсюджуються на корекцію імунної, гормональної та ферментної систем як молодняку, так і дорослих тварин та птиці [3, 7, 9, 21, 22, 51, 111, 151, 193]. Функції пробіотиків: захищають кишкову мікрофлору від заселення патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами, антагоністично впливаючи на них продуктами свого метаболізму; активізують імунну систему, регулюючи функції гуморального і клітинного імунітету, стимулюють вироблення імуноглобулінів, інтерферону, цитокінів, інтерлейкінів, фактора некрозу пухлини, посилюють активність макрофагів, моноцитів, гранулоцитів; беруть участь у травленні – метаболізують різні субстрати рослинного, тваринного і мікробного походження, ферментують вуглеводи, зокрема лактозу, білки, розщеплюють сечовину [1, 12, 23, 36, 37, 64, 78, 81, 91, 96, 113, 124, 141, 152, 190, 194, 206, 227].

Пробіотики широко застосовують для профілактики дисбактеріозів молодняку сільськогосподарських тварин і птиці. Основною передумовою

розвитку кишкових дисбактеріозів із боку макроорганізму є імунодефіцитний стан, зумовлений поєднаним ефектом еволюційних особливостей розвитку імунної відповіді в ранньому постнатальному періоді і впливом зовнішніх імунодепресивних факторів, таких як технологічний стрес, антибіотикотерапія, надмірне навантаження антигенами під час планових вакцинацій (дефіцит білків і вітамінів) [92].

У сучасних умовах ведення птахівництва раціони годівлі складені так, щоб забезпечити максимально швидкий приріст живої маси птиці. Зважаючи на велику чисельність поголів'я птиці на птахофабриках, навіть незначне зростання якісних показників суттєво впливає на економіку підприємств, які спеціалізуються на птахівництві. Однак підвищена концентрація поживних речовин зазвичай призводить до дисбалансу кишкової мікрофлори, внаслідок чого погіршується конверсія корму та знижуються прирости живої маси. Крім того, стреси, порушення режиму та якості годівлі можуть спричинити стійкі зміни кількісних характеристик і якісного складу нормобіосимбіоцинозу [3, 22, 36]. Останніми роками для інтенсивного вирощування птиці як м'ясної, так і яєчної порід стали активно застосовувати пробіотичні препарати, що сприяють зниженню ризиків масових захворювань, стимулюють резистентність і реактивність організму, справляють позитивний вплив на фізіологічні, біохімічні та імунні реакції організму [15, 36, 54–56, 58, 67, 116, 118, 138-140, 143, 144].

Кожен вид бактерій виконує специфічні функції. Так, біфідобактерії регулюють морфофункціональний стан слизової оболонки каналу травлення і його моторно-евакуаторну функцію, перешкоджають проникненню мікробів у верхні відділи та інші внутрішні органи (за рахунок колонізаційної резистентності). Молочна та оцтова кислоти, що продукують біфідобактерії, створюють у кишечнику кислу реакцію, яка попереджає розмноження патогенної, гнилісної та газотворної мікрофлори [100, 101]. Біфідобактерії здатні виділяти бактеріоцини (біфідин та

біфілонг), які проявляють антимікробну активність стосовно багатьох видів ентеробактерій, вібріонів, стрептококів та стафілококів [101, 219].

Лактобактерії беруть участь у гідролізі вуглеводів, продукують лізоцим, лактоцидин, ацидофілін, перекиси, антибіотики та бактеріоцини; пригнічують розвиток синьогнійної палички, стафілококів, ешерихій, протею, деяких видів шигел, серацій, сальмонел, стрептококів; перетворюють холестерин у копростанол [75, 99, 103, 214].

Для того, щоб пробіотик був ефективним, бактеріям, які входять до його складу, має бути притаманний певний спектр біологічної активності. Насамперед, вони мають бути адаптовані до умов мікробіоценозу, виявляти антагоністичну дію щодо широкого спектра патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, мати антитоксичні, антиоксидантні, антимуtagenні властивості, а також здатність балансувати імунну відповідь організму за різних форм імунодефіциту тощо [1, 104]. У зв'язку з цим для виявлення оптимальних пробіотичних штамів цільового призначення доцільним є проведення комплексних досліджень їхньої біологічної дії [1].

Дисфункція імунної системи, яка виникає внаслідок зміни екології, широкого застосування новітніх хіміопрепаратів різної природи, порушення нормальної мікрофлори тощо є однією з найважливіших причин підвищення агресивності умовно-патогенних коменсальних мікроорганізмів з подальшим розвитком інфекційно-запальних хвороб людини й тварин [93, 104, 195]. Одержання сучасних препаратів-імунобіотиків на основі представників нормальної мікрофлори, зокрема штамів лакто- та біфідобактерій, є важливою проблемою сучасної біотехнології [55, 89].

Дані літературних джерел свідчать, що імуномодулювальні властивості окремих культур лакто- та біфідобактерій суттєво відрізняються між собою, це є їх індивідуальною характеристикою. Створюючи препарати на основі лакто- та біфідобактерій з підвищеним рівнем імуномодулювальної активності – імунобіотики – доцільно

забезпечити виконання всіх умов максимальної реалізації закладеного в цих бактеріях біологічного потенціалу [1]. Останніми роками особливу увагу спрямовано на вивчення механізмів модулювального впливу лактобактерій на імунні реакції організму. Асоційовані зі слизовою оболонкою кишечника лактобактерії мають універсальні імуномодулювальні властивості, що включають як імуностимуляцію, так і імуносупресію [26, 63]. Стимуляційні ефекти лактобактерій проявляються в механізмах активації ретикуло-ендотеліальної системи шлунково-кишкового тракту та продукції низки цитокінів, що забезпечують баланс між гуморальним та клітинно-опосередкованим імунітетом [26, 63, 70, 71, 74]. Найважливішим механізмом взаємодії лактобактерій та взагалі представників облигатної мікрофлори з організмом хазяїна, що спрямовано на підтримку гомеостазу, є стимуляція продукції низки цитокінів [74,107]. Цитокіни поділяють на кілька груп: інтерлейкіни (ІІ) – фактори взаємодії між лейкоцитами; інтерферони (ІФН) – цитокіни противірусної та імуномодулюючої активності; фактори некрозу пухлин (ФНП) – цитокіни з цитотоксичною активністю; колонієстимуляційні фактори (КСФ) – гемопоетичні цитокіни та хемокіни (ХК) – хемотаксичні цитокіни [26,107, 197].

Штами, які використовуються у біотехнології пробіотиків характеризуються унікальним поєднанням високої антагоністичної дії до патогенних мікроорганізмів, високої імуномодулювальної, метаболічної активності, нешкідливості для макроорганізму і аутомікрофлори, високої стійкості до несприятливих умов зовнішнього середовища [146]. Сучасні вимоги Європейського регуляторного законодавства в галузі пробіотиків передбачають необхідність проведення всебічних досліджень біологічної активності як окремих пробіотичних культур, так і їх поєднань за створення пробіотичних препаратів на основі монокультур лакто- та біфідобактерій чи їх різних комбінацій [71, 115].

Здоров'я сільськогосподарської птиці залежить від балансу між нормальною і потенційно патогенною мікрофлорою кишечника. Будь-які зміни в цій рівновазі супроводжуються функціональними порушеннями, які, у свою чергу, призводять до зниження продуктивності. Використання пробіотиків дає змогу уникнути дисбалансу кишечника та загибелі молодняку [130, 153].

Одержання групи новітніх біотехнологічних препаратів – імунобіотиків – на основі попередньо відібраних і охарактеризованих представників нормальної мікрофлори птиці, зокрема штамів лакто- та біфідобактерій, є важливою проблемою сучасної біотехнології, адже сфери застосування цих пробіотичних препаратів значно розширюються, і пробіотичну терапію дедалі частіше ставлять на противагу антимікробній [1, 49, 56, 106, 154, 168, 198, 217, 220].

Отже, пробіотики є необхідним компонентом при сучасних технологіях вирощування птиці, тому розробка сучасних екологічно чистих про- біотичних кормових добавок, які є фізіологічними і безпечними для птиці, їх застосування для профілактики й лікування захворювань сільськогосподарських тварин та птиці є актуальним завданням сьогодення.

1.2. Бактеріальна флора кишечника сільськогосподарської птиці: основні відомості

Починаючи з 60–70 рр. ХХ ст. вчені наголошують на важливій ролі мікрофлори шлунково-кишкового тракту птахів у процесах травлення та засвоєння компонентів корму і вивчають її якісний та кількісний склад [11, 14]. Однак спроби корегувати та впливати на його склад прослідковуються з початку широкого застосування антибіотиків у птахівництві, насамперед з лікувальною, а потім і з профілактичною метою, що призвело до порушень мікроекології кишечника [29, 160].

Птахи відрізняються від інших сільськогосподарських тварин будовою травної системи, високою інтенсивністю метаболізму, важливу роль у якому відіграють ензими мікрофлори шлунково-кишкового тракту. Пташенята більш чутливі до інфекцій, несприятливих чинників навколишнього середовища, ніж ссавці, тому що не отримують імуностимулювальних та поживних речовин з материнським молоком. Загибель молодняку птиці значною мірою зумовлена захворюванням та порушенням роботи шлунково-кишкового тракту, спричиненими патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами [11, 27]. У момент вилуплення пташенят їх шлунково-кишковий тракт стерильний і заселяється в перші години життя мікроорганізмами середовища. Молоді птахи більш чутливі до колонізації патогенами саме через несформований мікробіоценоз кишечника [29, 96, 103, 136]. Тому найважливішою проблемою отримання здорового поголів'я сільськогосподарської птиці є забезпечення швидкого і повноцінного формування складу мікрофлори травного тракту в молодняку [24].

Нормальну мікрофлору організму, яку пов'язують із його здоров'ям, умовно поділяють на дві групи: облігатну (постійну, індигенну, автохтонну) і факультативну (транзиторну). Основні групи облігатної мікрофлори можуть існувати як у просвіті кишечника (порожнинна), так і утворювати біоплівки на поверхні ентероцитів, тісно зв'язуючись із рецепторами епітелію у глікокаліксі (пристінкова) [14]. Вже з першого дня кишечник курчат колонізують такі мікроорганізми: *E. coli*, бактерії родів *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* [11, 26, 29, 59]. Процес становлення стабільного кишкового мікробіоценозу у тонких кишках курчат триває 14–17 діб, у сліпих – 30 діб. Загалом зміни видового складу мікроорганізмів та їх співвідношення відбуваються впродовж 42 діб після вилуплення [29, 59] – в імунодепресивні періоди, які у постембріогенезі курчат-бройлерів припадають на: 3–5-, 12–20- та 42–45- доби [3, 11, 91]. Так, концентрація лакто- і біфідобактерій, кількість яких у кишечнику

курчат найбільша, до 28 доби зменшується, і дуже важливо, щоб тут не домінували умовно-патогенні види [16, 17]. Кількість ешерихій зі зниженою ензиматичною активністю може досягати 30–40 % [11].

З організмом тварини асоційовано сотні видів мікроорганізмів, однак більшість з них зустрічається в усіх видів тварин та птахів, змінюються лише кількісні показники. Основні представники мікрофлори травного тракту тварин, це біфідобактерії – складають 90-98 % від загальної кількості мікроорганізмів [29].

У перші години життя кишечник пташеняти швидко колонізується переважно біфідо- й лактобактеріями, кишковою паличкою та ентерококами [11, 172, 185]. Це призводить до перевитрат кисню та зниження окисно-відновного потенціалу у просвіті кишок, що в свою чергу стимулює розмноження анаеробних бактерій. Оскільки у дорослої птиці в травний тракт з кормом потрапляє незначна кількість кисню, впродовж усього життя у складі мікробіоценозу переважають облигатні анаероби (95–99%), а аеробні та факультативно анаеробні види становлять 1–5% від загальної кількості мікроорганізмів [11, 119].

Біфідобактерії – основні представники бактерій у кишечнику, вони складають 90–98 % від загальної кількості мікробів, знаходяться переважно у товстому кишечнику і є базисом пристінкової та порожнинної мікрофлори. Лактобактерії заселяють різні відділи травного тракту, починаючи з ротової порожнини і закінчуючи прямою кишкою. Вони продукують лактат, лактазу, пероксид водню, лізоцим, антибіотикоподібні сполуки, які пригнічують ріст умовно патогенних мікробів та збудників гострих кишкових інфекцій, стимулюють фагоцитоз та синтез імуноглобулінів, формують колонізаційну резистентність [29, 117, 159, 223].

У процесі еволюції склалася мікроекологічна система кооперації мікрофлори кишечника з одночасною чіткою диференціацією функцій між окремими видами мікроорганізмів, що дає змогу мікрофлорі травного

тракту виступати як єдине ціле. Це забезпечує не тільки стабільність мікробіоценозу всієї екологічної системи організму, а й потреби макроорганізму. Нормальна мікрофлора має елементи саморегуляції і в певних межах здатна протистояти впливу шкідливих умов, зберігаючи чисельність мікробних популяцій.

Особливо слід відзначити одну з найважливіших функцій нормальної мікрофлори – її участь у забезпеченні високого рівня природної резистентності макроорганізму. У разі втрати або зниження цієї функції ШКТ колонізується патогенними і умовно-патогенними мікроорганізмами [11, 156, 225].

Ешерихії (кишкові палички) перешкоджають патогенній мікрофлорі заселяти стінку кишечника. Як активні аероби, кишкові палички використовують з порожнини кишечника кисень, тим самим створюючи комфортні умови для основних представників кишкової флори, виділяють коліцини, які пригнічують ріст патогенних мікроорганізмів [29, 165].

Бактероїди – анаеробні неспоротворні мікроорганізми, присутні в основному у товстому кишечнику, беруть участь у процесах травлення, декон'югації жовчних кислот, утилізують полісахариди. Ентерококи, пептострептококи – кишкові стрептококи, не перевищують за кількістю кишкову паличку, утворюють водень, що перетворюється в порожнині кишечника у пероксид водню, та підтримують рівень рН 5,5 і нижче, виділяють антибіотичні сполуки [29, 215]. Зменшення кількості анаеробних представників індигенної мікрофлори створює умови для розвитку умовно-патогенних мікроорганізмів, які постійно потрапляють в організм птиці з кормом: ентеробактерій, стафілококів, грибків, протей, клостридій та інших. Ця транзиторна мікрофлора за певних обставин спричинює захворювання птахів [29, 230].

Основними базисними мікроорганізмами для птиці є факультативні та обов'язково анаеробні мікроорганізми: біфідобактерії, лактобацили і лактатферментуючі бактерії, бактероїди. Близько 99 % від загальної

кількості мікроорганізмів сліпої чи товстої кишок птахів різних видів становлять біфідо- та лактобактерії [11, 125].

У різних відділах шлунково-кишкового тракту птахів кількість мікроорганізмів різна. Так, у волі вона становить близько 10^3 - 10^4 КУО (колонієтворні одиниці)/г (в основному лактобактерій) [29].

У залозистому та м'язовому шлунках їх менше (10^2 – 10^3 КУО/г) через наявність у ньому шлункових соків, які пригнічують розмноження. У дванадцятипалій кишці виявлено незначну кількість мікрофлори (10^3 КУО/г) через присутність жовчі, однак з неї виділяють кишкові палички, ентерококи і спорові бактерії. Тонкий кишечник заселений кишковими паличками, ентерококами, споровими та лактобактеріями. Загальна кількість мікроорганізмів у ньому становить 10^5 – 10^6 КУО/г. Найбільше мікроорганізмів у кінцевих відділах тонких кишок, сліпій та прямій кишках (10^7 – 10^9 КУО/г). За видовим складом це представники тих самих родів, що й у тонкому кишечнику, однак у значно більшій кількості [11, 105, 137].

Життєдіяльність організму птиці тісно пов'язана з активністю його мікрофлори. У макроорганізмі вона виконує такі функції: морфокінетичну; участь в обміні речовин та підтриманні рН; продукування біологічно активних сполук; імуногенну; забезпечення колонізаційної резистентності; детоксикаційну [11, 163].

Морфокінетична функція розпочинається з моменту вилуплення пташеняти та заселення кишечнику мікроорганізмами доквілля; диференціація епітеліальних клітин кишечнику, формування рецепторів, специфічних до непатогенної мкрофлори, залежать від присутності мікрорганізмів, які взаємодіють з ентероцитами [11, 187, 229]. Мікроорганізми впливають на морфометрію та розмір кишок, стимулюють розвиток крипт і ворсинок, моторну функцію травного тракту [12,17, 36, 39, 45]. Окрім того, відомо, що вони здатні впливати й на розміри та функції підшлункової, щитоподібної залоз і наднирковиків [9, 12,40].

Мікроорганізми впливають на всмоктування кальцію, заліза, вітаміну Д, синтез амінокислот, вітамінів та інших біологічно активних сполук [11, 14, 29]. Наприклад, кишкова паличка синтезує 9 вітамінів: тіамін, рибофлавін, пантотенову та нікотинову кислоти, піридоксин, біотин, фолієву кислоту, ціанокобаламін та вітамін К. Біфідобактерії синтезують аскорбінову кислоту, а також разом із лактобактеріями сприяють засвоєнню вітаміну Д та солей кальцію. Лактобактерії утворюють специфічні антимікробні речовини – лактолін, лактоцидин, ацидофілін [11, 14, 29, 24], а кишкова паличка у процесі життєдіяльності виділяє коліцини. У разі зміни якісного або кількісного складу нормальної мікрофлори у кишечнику порушуються вищезазначені функції [11, 14, 29].

Це призводить до зниження продуктивності птиці та, у деяких випадках, до її загибелі. Тому мікробіоценоз кишечнику має бути у стані рівноваги, а порушення цього стану називають дисбактеріозом або дисбіозом кишечнику. Він характеризується зміною динамічної рівноваги кишкової мікрофлори в якісному та кількісному складі [11, 26].

Мікрофлора кишечнику (біфідо- та лактобактерії) сприяє формуванню імунобіологічних реакцій організму, стимулює лімфоїдний апарат, синтез цитокінів, інтерферону, імуноглобулінів, підвищують активність лізоциму [29; 95, 191, 196, 200, 202, 203]. Створена мікроорганізмами біоплівка на поверхні стінок кишечнику захищає від транслокації бактерій у внутрішні органи та кров. Крім того, мікрофлора кишечнику стимулює дозрівання макрофагально-гістоцитарної системи [29].

Стійкість до розмноження патогенної мікрофлори, так звана колонізаційна резистентність, забезпечується багатьма факторами, зокрема конкуренцією за місця адгезії та субстрати. В основі антагоністичної дії мікрофлори кишечнику лежить здатність бактерій зв'язуватися з рецепторами на поверхні епітеліальних клітин та між собою, створюючи захисну плівку. Специфічність рецепторів адгезії закладено генетично у

кожної окремої особини [29, 163, 178]. Також у порожнині кишки створюється несприятливе середовище для існування патогенів за рахунок метаболітів біфідо- та лактобактерій (оцтова, янтарна, молочна кислоти), які знижують рН середовища, що гальмує ріст та розвиток умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів [29].

Зміни співвідношень між облігатною та факультативною мікрофлорою шлунково-кишкового тракту птахів та окремих їх асоціацій спричинюють зміну складу мікробних ензимів, що порушує процес травлення, спочатку розщеплення полісахаридів, а потім і протеїнів та жирів. У результаті цього в кишечнику птахів посилюється газоутворення та розпочинаються процеси бродіння, а частково і гниття, що призводить до токсичного отруєння організму загалом [11, 14]. Основними причинами погіршення процесів травлення є ушкодження поверхні кишечника паразитами, вірусами, токсинами, бактеріями та пригнічення перетравності за надмірного росту бактерій деяких видів. Усе це призводить до збільшення часу перебування корму в травному тракті птиці та, відповідно, до розмноження у тонкому відділі кишечника мікроорганізмів умовно-патогенних та патогенних видів [11, 29].

Таким чином, збереження стабільного складу мікрофлори шлунково-кишкового тракту птахів забезпечить повноцінне функціонування травної, гормональної й імунної систем організму, здоров'я птиці та її продуктивні показники. Сучасні технології вирощування птахів різних кросів з високим генетичним потенціалом вимагають особливого підходу до профілактичних та лікувальних заходів у разі інфекційних захворювань, особливо змішаної етіології [29].

Отже, для покращення ситуації необхідне повне розуміння ролі ендогенної мікрофлори в організмі сільськогосподарської птиці для створення та використання ефективних пробіотичних добавок з метою підвищення ефективності ведення птахівництва.

1.3. Біотехнологія мікробних препаратів та критерії підбору пробіотичних штамів мікроорганізмів

Обґрунтування підходів до відбору пробіотичних штамів для створення пробіотичних препаратів починається з опису функцій та стану мікробіоценозів, нормалізувати які покликані пробіотики [13].

Деякі автори рекомендують для отримання ефективного пробіотика використовувати два й більше бактеріальних штамів. При цьому, кожен з них повинен симбіотично продовжувати роботу інших, а разом – стимулювати процеси травлення в комплексі з тими мікроорганізмами, які традиційно заселяють травний канал. Крім цього, при відборі культур для приготування пробіотиків треба пам'ятати, що вони повинні відповідати наступним вимогам: - бути непатогенними і нетоксичними у шлунково-кишковому тракті тварин; - мати здатність до адгезії на епітелії та приживленню у травному каналі, у якому ферментативна активність висока, а середовище агресивне; - зберігати активність в екосистемі рубця (у разі виготовлення пробіотика для жуйних тварин), переносити пасаж через шлунок та метаболізуватися у кишечнику моногастричних тварин і птиці, при цьому, підвищувати їх інтенсивність росту і резистентність до захворювань; - бути стабільними і здатними тривалий час залишатися життєздатними при зберіганні у чистому вигляді, або в складі кормів у виробничих умовах [80].

В останні роки велика увага приділяється пошуку пробіотичних штамів, зокрема лакто- та біфідобактерій з імуномодулюючими властивостями, які регулюють розвиток імунної відповіді за рахунок балансування продукції цитокінів Th1/Th2 типів та впливають на розвиток клітинної та гуморальної імунної відповіді, змінюючи продукцію цілої низки імунорегуляторних цитокінів, насамперед Th1-типу (інтерферону- γ та інтерлейкіну-12) [28, 60]. Перспективним напрямком імунокорекції також є розробка нових методів лікування, які передбачають комбіноване застосування пробіотиків з іншими імуномодулюючими препаратами,

зокрема препаратами інтерферону та інтерлейкінів (наприклад ІЛ-2), оскільки саме ці біологічно активні речовини є ключовими для адекватної активації імунної системи та спрямування імунної відповіді за клітинним типом [9].

Альтернативним та більш перспективним напрямком стали наукові пошуки безпосередньої модифікації пробіотичних штамів за допомогою клонування генів противірусних білків – рекомбінантних штамів [28]. У 2005 р. на всесвітньому конгресі з гастроентерології в Монреалі були представлені пробіотики нового покоління – препарати, основою яких є рекомбінантні штами мікроорганізмів із заданими властивостями, спроможні стимулювати синтез або продукувати ендогенний інтерферон, і, таким чином, проявляти не лише антагоністичну активність щодо бактеріальних патогенів, але й противірусну активність [123, 126, 127].

Проте суспільство відноситься до продуктів генної інженерії з обережністю. Тому на теперішній момент активно проводиться пошук природних штамів із вираженими імуногенними властивостями [28].

Основна маса пробіотичних препаратів основана на різних штаммах біфідобактерій та лактобацил. Біфідо- та лактобактерії займають провідне місце, підтримуючи баланс та стабілізуючи гомеостаз за рахунок надійної адгезії до слизової оболонки кишечника, визначаючи основні локуси існування для інших мікроорганізмів. Бактерії обох видів продукують молочну кислоту, визначаючи стан кислотності у шлунково-кишковому тракті та на слизових оболонках статевих шляхів. Вони продукують бактеріоцини, які чинять антимікробну дію проти потенційно патогенних штамів кишкової мікрофлори, мають сильні антагоністичні властивості стосовно багатьох умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів, попереджають колонізацію й розвиток патологічних процесів; відповідають за теплове забезпечення організму та енергозабезпечення епітелію; регулюють перистальтику кишечника, підтримують іонний гомеостаз; виводять екзогенні та ендогенні субстрати з організму;

стимулюють імунну систему та місцевий імунітет; підтримують фізико-хімічні параметри гомеостазу приєпітеліальної зони; беруть участь у протипухлинному нагляді та синтезі вітамінів, ферментів, антибіотиків, гормоноподібних субстанцій, незамінних амінокислот, низькомолекулярних жирних кислот, пептидів, сигнальних молекул, у тому числі нейротрансмітерів [82, 101, 131- 135, 161].

З метою розширення спектру досліджень імуномодулюючих властивостей пробіотиків для виявлення їх ефективності і безпечності пропонують ввести термін «імунобіотики» щодо пробіотичних бактерій, позитивний вплив яких на здоров'я реалізується через стимуляцію імунних механізмів слизових оболонок, на відміну від тих пробіотичних штамів, які спричинюють лише локальні ефекти. Оцінка імуномодулюючої активності пробіотичного штаму повинна проводитись *in vitro*, на тваринах, у клініці. Аналіз *in vitro* полягає у визначенні цитокінового профілю штаму. Активність штаму має визначатись на моноцитах, макрофагах або поліморфонуклеарних лейкоцитах периферичної крові людини (PMN) з попереднім встановленням здатності штаму до індукції протизапальних цитокінів макрофагами, цитокінів моноцитами периферичної крові, а також до індукції розвитку і активації дендритних клітин [13].

Отже, критерії відбору штамів МКБ – претендентів для створення пробіотичних препаратів сьогодні описані в багатьох експериментально-аналітичних вітчизняних та іноземних працях. Водночас системний поетапний план оцінки пробіотичного продуценту перебуває в стані розробки та постійного вдосконалення і регламентується переважно закордонними директивами ЄС, FAO/WHO.

Указані директиви мають враховувати на етапі *in vitro* залежність критеріїв відбору від чинників: а) технологічних (склад живильного середовища, температура, рН, тривалість культивування); б) зовнішнього середовища (лікарські засоби, а саме, антибіотики, цитостатики, сезонні зміни біологічних показників пробіотичного штаму); і в) макроорганізму

(стан мікробіоценозу, рецепторна активність клітин, швидкість потоку внутрішньо-порожнинного вмісту і антибіотичних секретів кишечника) [13]. Удосконалення технологічних процесів дозволило впровадити у практику сорбовані пробіотики, в яких бактеріальні штами, що складають їх основу, розміщені на спеціальних субстанціях – сорбентах. Це сприяє транспортуванню активних компонентів до місця призначення і підсилює біологічну активність препаратів [28].

Створення та широке впровадження у ветеринарну медицину високоякісних ПР на основі українських біоваріантів фізіологічної мікрофлори, споріднених до біоценозів жителів України, є актуальним та важливим завданням. У зв'язку з цим важливою є розробка комбінованих ПР, що містять різні види бактерій, у першу чергу, біфідобактерії та лактобацили. У багатьох клінічних дослідженнях наведено ефективність комбінацій, що мають комплексний механізм дії, на відміну від монопрепаратів, які дуже часто виявлялися неефективними. ПР-препарати, що містять біфідобактерії та лактобацили, справлятимуть виражений лікувальний ефект по всій довжині кишечника, оскільки вони концентруються, в основному, у товстому відділі, а лактобактерії – у тонкому. Саме тому перспективним є створення високоефективних полікомпонентних пробіотичних добавок з додатковими властивостями, тобто поліфункціональних пробіотиків [101].

Тому, обираючи пробіотик, передусім необхідно ретельно вивчити запропонований препарат, зібрати всю необхідну інформацією щодо його фармакологічних властивостей та особливостей застосування і лише після цього, враховуючи технологію утримання та годівлю тварин, виробництво кормів і ті проблеми, які є у господарстві, можна правильно визначитися щодо його використання [80].

Таким чином, у сучасний період необхідно проводити ціліспрямований пошук та відбір потенційно пробіотичних штамів мікроорганізмів з полі- функціональними властивостями.

1.4. Імуномодулювальна дія пробіотичних штамів

В останні роки велика увага приділяється пошуку пробіотичних штамів, зокрема лакто- та біфідобактерій з імуномодулюючими властивостями, які регулюють розвиток імунної відповіді за рахунок балансування продукції цитокінів Th1/Th2 типів та впливають на розвиток клітинної та гуморальної імунної відповіді, змінюючи продукцію цілої низки імунорегуляторних цитокінів, насамперед Th1-типу (інтерферону- γ та інтерлейкіну-12) [31, 221]. Перспективним напрямком імунокорекції також є розробка нових методів лікування, які передбачають комбіноване застосування пробіотиків з іншими імуномодулюючими препаратами, зокрема препаратами інтерферону та інтерлейкінів (наприклад ІЛ-2), оскільки саме ці біологічно активні речовини є ключовими для адекватної активації імунної системи та спрямування імунної відповіді за клітинним типом [52, 191].

Дисфункція імунної системи, яка виникає внаслідок зміни екології, широкого застосування новітніх хіміопрепаратів різної природи, порушення нормальної мікрофлори тощо є однією з найважливіших причин підвищення агресивності умовно-патогенних коменсальних мікроорганізмів з подальшим розвитком інфекційно-запальних хвороб людини й тварин [104]. Одержання сучасних препаратів-імунобіотиків на основі представників нормальної мікрофлори, зокрема штамів лакто- та біфідобактерій, є важливою проблемою сучасної біотехнології [55].

Дані літературних джерел свідчать, що імуномодулювальні властивості окремих культур лакто- та біфідобактерій суттєво відрізняються між собою, це є їх індивідуальною характеристикою. Створюючи препарати на основі лакто- та біфідобактерій з підвищеним рівнем імуномодулювальної активності – імунобіотики – доцільно забезпечити виконання всіх умов максимальної реалізації закладеного в цих бактеріях біологічного потенціалу [1, 35]. Останніми роками особливу

увагу спрямовано на вивчення механізмів модульовального впливу лактобактерій на імунні реакції організму. Асоційовані зі слизовою оболонкою кишечника лактобактерії мають універсальні імуномодульовальні властивості, що включають як імуностимуляцію, так і імуносупресію [97, 221]. Стимуляційні ефекти лактобактерій проявляються в механізмах активації ретикуло-ендотеліальної системи шлунково-кишкового тракту та продукції низки цитокінів, що забезпечують баланс між гуморальним та клітинно-опосередкованим імунітетом [191]. Найважливішим механізмом взаємодії лактобактерій та взагалі представників облигатної мікрофлори з організмом хазяїна, що спрямовано на підтримку гомеостазу, є стимуляція продукції низки цитокінів [221].

Кишкова мікрофлора та імунна система органів травлення – єдиний потужний периферичний комплекс імунного захисту, який прямо чи опосередковано впливає на імунофізіологічний стан цілого організму. Актуальність фармакологічної корекції імунодефіцитів зумовлена, у першу чергу, широким їх розповсюдженням, а також тим, що вони є причиною розладів функцій інших систем організму [14].

Стратегія сучасних наукових досліджень у цьому напрямі спрямована на детальне вивчення імунодепресивних механізмів і пошуку ефективних способів корекції порушеного імунного гомеостазу, альтернативним способом профілактики яких є застосування пробіотиків [191].

Оскільки ентеральний шлях інфікування є чи не основним, відповідно, і слизова оболонка ШКТ є потужним периферичним органом імунного захисту. Першим захисним бар'єром тут виступає мікросередовище із травних ферментів та присутність фізіологічного мікробіоценозу. Другу лінію оборони становить слизова оболонка ШКТ із властивою їй великою кількістю лімфоїдної тканини, за що й отримала свою назву: імунна система шлунка і кишок – GALT (gut associated lymphoid tissue) [69].

З 2006 р. наукова спільнота розглядає мікрофлору кишечника як новий метаболічно активний орган, що складається з кількох трильйонів бактерій коменсалів. Загально визнано, що присутність нормобіоти в організмі – необхідна умова для розвитку тканин, органів і фізіологічних систем. Мікробіоті притаманні такі основні фізіологічні функції: колонізаційна, детоксикаційна, біосинтетична, травна, трофічна, фізико-хімічна, енергетична, процесинг харчових продуктів, терморегулювальна, регуляторна, генетична, імуномодулювальна та системні функції [69]. Мікробіота сприяє розвитку судинного ложа кишечника, нервової системи в ранньому дитинстві та її функціонуванню у дорослих, а також є визначальним чинником формування лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовими поверхнями (Mucosa Associated Lymphoid Tissue – MALT), у тому числі й кишечника (Gut Associated Lymphoid Tissue – GALT) [69].

Взаємодія між бактеріями й MALT (GALT) відбувається на трьох основних рівнях: епітеліоцити, антигенпрезентувальні клітини й ефекторні клітини адаптивної імунної відповіді. Формування GALT і компонування популяційного складу клітин імунної системи у її складі визначається мікробіотою у ранньому постнатальному періоді [69, 136].

Першим рівнем взаємодії мікробіоти кишечника з імунною системою хазяїна є контакт з епітелієм. Епітеліоцити кишечника, а також ендокринні, бокалоподібні клітини експресують низку патернорозпізнавальних рецепторів (ПРР), відповідальних за взаємодію з антигенами мікроорганізмів, під загальною назвою мікробо- або патогенасоційовані молекулярні патерни (ММПП або ПАМПП). ПРР поділяють на кілька родин: основні, зокрема TLR (Toll-like receptors), RLR (retinoic acid inducible gene I (RIG-I)-like receptors), NLR (nucleotide oligomerization domain – NOD-like receptors), а також лектинові рецептори С-типу та цитозольні ДНК-сенсори. Генетично детерміновані або набуті порушення експресії та регуляції ПРР у кишечника асоціюються з розвитком патологічних станів. Особливе значення має регуляція

експресії TLR4, оскільки активація саме цього ПРР асоціюється з розвитком запальних захворювань у кишечнику. У відповідь на взаємодію з МАРП мікробіоти епітеліоцити секретують низку біологічно активних медіаторів, що регулюють проліферацію і міграцію клітин імунної системи, опосередковують ізотипове переключення плазматичних В-клітин до синтезу імуноглобуліну А (sIgA), активують утворення виростів (дендритів) дендритними клітинами (ДК). Взаємодія ПРР клітин епітелію з ПАРП мікробіоти необхідна не лише для ініціювання імунної відповіді і синтезу антибактеріальних субстанцій, а й для активації проліферації епітеліоцитів, запобігання їх апоптозу та активації синтезу молекул міжклітинної адгезії [69, 201, 221].

Отже, у межах GALT можливе ініціювання двох протилежно спрямованих імунних реакцій: агресивної імунної відповіді, спрямованої на елімінацію патогенів, і толерантності/імунорегуляції – на безпечне співіснування імунної системи з мікробіотою. Антигенам мікробіоти притаманна унікальна здатність сприяти розвитку толерантності/імунорегуляції. Надзвичайно важливу імунорегуляторну роль виконують коротколанцюгові жирні кислоти (КЛЖК) – продукти метаболізму мікробіоти. Ацетат, пропіонат і бутират зв'язуються зі специфічними G-протеїновмісними рецепторами, що експресовані переважно на клітинах імунної системи. Ацетат і бутират стимулюють синтез секреторних муцинів та посилюють експресію протеїнів, що забезпечують щільні контакти між епітеліоцитами. Імуномодулювальна дія КЛЖК поширюється лише на стимульовані клітини імунної системи [28, 69, 191].

Пробіотики, згідно з визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), – це живі мікроорганізми, застосування яких в адекватній кількості поліпшує здоров'я організму хазяїна.

За призначенням пробіотики можна класифікувати: 1) для забезпечення функціонального харчування – ФПХ; 2) для терапії та

відновлення мікробіоценозу після тривалого застосування антимікробних засобів; 3) для терапії у разі захворювань бактеріальної і вірусної етіології; 4) для імунокорекції під час запальних захворювань – імунобіотики [69,221].

Біологічні ефекти пробіотичних мікроорганізмів є штамоспецифічними. Залежно від типу, виду, штаму пробіотичні бактерії можуть справляти імуностимулювальну, імунодевіаторну (біполярну) та імунорегуляторну/супресивну дію.

Імуномодулювальні ефекти пробіотичних бактерій реалізуються через клітиноасоційовані механізми і продукуванням біологічно активних субстанцій з імунорегуляторними властивостями [180, 183, 191, 205].

Модуляція імунологічної реактивності – один із важливих механізмів дії пробіотичних мікроорганізмів, що може бути покладений в основу диференційованого застосування пробіотичних засобів з метою профілактики і лікування захворювань. Стратегія ефективного застосування імуномодулювальної дії пробіотиків містить три складових: знання складу і функцій мікрофлори різних біотопів з урахуванням ентеротипу, вікових та індивідуальних особливостей, причин та характеру дисбіозів; оцінювання стану системної і локальної імунологічної реактивності, патологічних процесів, циркадної динаміки; аналіз і врахування механізмів дії пробіотичного (-их) мікроорганізму (-ів). Комплексна оцінка усіх складових дає змогу визначити характер необхідної імуномодуляції, склад пробіотиків і ФПХ та особливості їх застосування.

1.5. Застосування пробіотиків у тваринництві та птахівництві

Застосування пробіотиків з лікувально-профілактичною метою, на відміну від антибіотиків, стимулює імунну відповідь організму тварин, відновлює нормоценоз, водночас продукція тваринництва залишається екологічно безпечною. Пробіотичні препарати не мають протипоказань

щодо застосування, не зумовлюють побічних реакцій навіть у дозах, значно вищих від рекомендованих. У нинішній час пробіотики можуть бути використанні для: стимуляції неспецифічного імунітету тварин; профілактики і лікування змішаних шлунково-кишкових інфекцій, а також при розладах травлення аліментарної етіології (дисбактеріози, гострі ацидозу та ін.), що виникають внаслідок різкої зміни складу раціону, порушення режимів годівлі; переустановлення мікрофлори травного тракту після лікування антибіотиками або антибактеріальними засобами хіміотерапії; заміни антибіотиків у кормах для молодняку тварин і птиці; прискорення адаптації тварин до високоенергетичних раціонів; підвищення ефективності використання кормів та продуктивності тварин і птиці; подолання наслідків технологічних стресів, зумовлених вакцинацією, транспортуванням та іншими діями, що передбачені технологією виробництва. Однією із найскладніших проблем при виготовленні пробіотиків є відбір бактеріальних штамів, призначених для ефективною колонізації шлунково-кишкового тракту. При цьому, як вказують спеціалісти, штами, які використовують для створення біопрепаратів, повинні: вибірково пригнічувати ріст патогенних культур, мати високу ферментативну, синтетичну і метаболічну активність, стимулювати імунобіологічні системи організму [71, 112, 167, 170, 222].

На основі молочнокислих та біфідобактерій (10^9 КУО/см³) і пропіоновокислих бактерій (10^6 КУО/см³) для використання у птахівництві розроблена кормова суміш Полібіоніка. Застосування кормової суміші Полібіоніка підвищує імунну відповідь на введення вакцин проти вірусних захворювань птиці НХ, ІБХ та ІБК і сприяє утворенню активного захисту організму птиці проти вірусних захворювань [8].

Випуск екологічно чистої продукції – це часткове обмеження чи повна заміна антибіотиків природними препаратами, скорочення застосування хіміотерапевтичних препаратів, зменшення негативного впливу кормів та кормових інгредієнтів, шкідливих факторів зовнішнього

середовища на організм птиці. При цьому першочерговим завданням є використання власних ресурсів організму, його імунної системи для боротьби з бактеріальними та вірусними інфекціями, токсичними отруєннями, кокцидіозом [10].

Пробіотичний препарат «Біонорм П» виробництва ТОВ НВП «Аріадна» під час застосування бройлерам у дозі 0,02 г/кг маси тіла з водою упродовж 5-и діб, починаючи з 2-ї по 6-у добу та повторно – з 20-ї по 26-у добу, проявив високу профілактичну ефективність щодо захворювань шлунково-кишкового тракту. «Біонорм П» не тільки діє позитивно на організм птиці, але підвищує економічні показники, а саме, середньодобові прирости та збереженість птиці [10].

В якості перспективних конкурентів патогенам увагу дослідників привернули спороутворюючі бактерії роду *Bacillus*, які стабільно виділяються з різноманітних біотопів, в тому числі з організму і тканин теплокровних тварин, комах та рослин [22, 23]. На відміну від біфідобактерій і лактобацил, які тривало персистують в макроорганізмі з утворенням біоплівки, бактерії роду *Bacillus* не колонізують слизові оболонки. Разом з тим вони регулярно потрапляють у травний тракт із зовнішнього середовища і діють на макроорганізм переважно в період надходження: чинять антагоністичну дію на патогенні й умовнопатогенні мікроорганізми, беруть участь у процесах травлення завдяки ферментативній активності, чинять позитивний вплив на макроорганізм, продукуючи різноманітні біологічно активні речовини. Для штамів цього роду характерні висока стійкість до несприятливих умов зовнішнього середовища, висока ферментативна та антагоністична активність щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. При цьому вони є продуцентами біологічно активних речовин і характеризуються тим, що не викликають розвиток патологічного стану у людей. Вищезазначене обумовлює перспективність використання цих бактерій в якості основи для розробки лікувально-профілактичних препаратів [28].

Останніми роками велику увагу дослідників привертає розробка кормових добавок з використанням живих культур мікроорганізмів, так званих пробіотичних продуктів. Стратегія в створенні цих продуктів направлена, перш за все, на забезпечення фізіологічної потреби організму тварин в біологічно активних речовинах [17, 43, 69, 208, 212].

Увагу дослідників привертають споруутворюючі бактерії роду *Bacillus*, як найбільш яскраві представники екзогенної мікрофлори. Досить великий арсенал цього роду бактерій випробовувався як терапевтичні засоби при гострих і хронічних інфекціях: *Bacillus cereus*, *B. polymyxa*, *B. coagulans*, *B. brevis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. laterosporus* та ін. Однак, найбільш повно і всебічно вивчені види *B. subtilis* і *B. licheniformis* [17, 196]. У результаті проведених досліджень визначення ефективності пробіотика Probion-forte, виробництва Woogen (Корея) встановлено, що фармакологічна дія досліджуваних пробіотичних добавок спричинює краще засвоєння корму, збільшення маси тіла поросят, а також зростання гематокриту вмісту гемоглобіну, еритроцитів та лімфоцитів у порівнянні щодо контролю. Мікробіологічні показники вказували на корегування мікрофлори дванадцятипалої та сліпої кишок в сторону збільшення корисних мікроорганізмів (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) і зменшення умовно-патогенної мікрофлори (*Klebsiella spp*, *Proteus spp*, *Shigella spp.*, *Enterobacter spp*, *Staphylococcus spp*). Найбільш виражену різницю у досліджуваних показниках відмічали у поросят, яким згодовували Probion-forte після відлучення впродовж 10 тижнів в дозі 1,0 г/кг корму[17].

На сьогодні різні вітчизняні та іноземні фірми випускають пробіотики у вигляді сухих препаратів ліофільно висушених мікроорганізмів, у чистому вигляді або в технічній формі з живильним середовищем. Як наповнювач для перших використовують сухе молоко, сахарозу, а для технічної форми – кукурудзяну, рибну або іншу муку. Останні більш зручні за групового призначення тваринам з кормом.

Багатокомпонентний склад (амінокислоти, вітаміни, ферменти, інші біологічно активні речовини) і різнобічна фармакологічна дія дозволяють застосовувати пробіотики з високим ефектом для профілактики та лікування шлунково-кишкових хвороб і дисбактеріозів, порушень обміну речовин (гіповітамінози, анемії та ін.) регуляції післястресових станів, особливо в період технологічно обов'язкових заходів, коригування антимікробної терапії, попередження рецидивів хвороб, підвищення продуктивності та стимуляції росту тварин.

Для підвищення ефективності використання пробіотичних препаратів важливе значення мають також регламент застосування і призначення їх складових у макроорганізмі. Найдоцільніше застосування пробіотиків у перші години (дні) життя, коли кишечник практично «стерильний» і починає заселятися переважно ентеробактеріями, ентерококами та іншими аеробними мікроорганізмами (оскільки вони менш вимогливі від інших до складу поживного середовища і кислотності хімусу), тоді як фізіологічний рівень норми за біфідо- і лактофлорою досягається лише у 2-3 тижневому віці. Таким чином, у молодняку з перших днів життя спостерігають фізіологічний дисбактеріоз, який часто поєднується з імунодефіцитом, що робить цю вікову групу особливо чутливою до шлунково-кишкових патологій. Тому, для уникнення проблем, зумовлених кишковими інфекціями, дуже важливо відразу після народження використовувати пробіотики, щоб контролювати процес його заселення корисною мікрофлорою. Крім того, препарати необхідно застосувати на початкових стадіях захворювання і після курсів антибактеріальної терапії, а також у період вікових фізіологічних змін. Деякі автори рекомендують вводити пробіотичні препарати у дозах 10^6 - 10^7 мікробних тіл на 1 г корму. Вони також вказують, що найефективнішим в умовах виробництва є застосування пробіотиків з питною водою або кормом.

У боротьбі з дисбактеріозами для нормалізації мікрофлори шлунково-кишкового тракту, формуванні біоценозів у його вмісті, на думку вчених, кращим є збагачення кишкової мікрофлори не однією культурою, а комплексом підібраних штамів, здатних легко пристосуватися і прижитись у певному середовищі проживання. Мультикомпонентні препарати, що містять два і більше видів бактеріальних штамів, будуть більш ефективними, ніж монокомпонентні пробіотики. Мультикомпонентні пробіотики можуть бути використані для захисту від різних факторів ризику, тому що відбувається зв'язування з різними видами рецепторів. Наприклад, добре відомо, що TLR-рецепторам, які експресуються дендритними клітинами, властиве явище поліморфізму. Пробиотичні штами можуть проявляти властиві їм імунологічні ефекти тільки за умови зв'язування з TLR-рецепторами дендритних клітин. Можна припустити, що мультикомпонентні пробіотики будуть характеризуватися більш вираженим імуномодулювальним ефектом, оскільки вони зможуть зв'язатися з більшою кількістю поліморфно змінених TLR-рецепторів [173, 182, 191].

Проблеми розвитку птахівництва в Україні набули загальнонаціонального значення. Тривалий час внутрішній український ринок заповнювався імпортованими продуктами птахівництва. Проте входження вітчизняної економіки до Світової організації торгівлі вимагає, по-перше, вивчити світові організаційно-технологічні досягнення і, по-друге, ознайомитись із світовою практикою ведення птахівництва з метою обґрунтованого визначення завдань подальшого розвитку цієї галузі в нашій країні [7, 19, 28, 37].

У сучасних умовах організм тварин піддається дії цілого комплексу несприятливих факторів, що негативно впливають на функціонування основних систем життєдіяльності та продуктивність сільськогосподарських тварин, у тому числі птиці [3, 5, 7, 8, 10, 20, 38].

На вітчизняному ринку ветеринарних препаратів (за фармако-терапевтичними групами) біопрепарати, включаючи пробіотики, становлять 29,6 % від загальної кількості препаратів, що застосовуються для тварин і птиці всіх видів. Причиною дисбалансу в потребі і використанні пробіотичних препаратів саме у птахівництві є недостатня кількість високоефективних, недорогих пробіотичних препаратів [37]. Питання оздоровлення, підвищення загальної резистентності організму птиці, підвищення їх продуктивності за допомогою пробіотиків дуже перспективне, але водночас і складне, й потребує проведення ґрунтовних та фундаментальних наукових досліджень.

Стан здоров'я птиці певною мірою залежить від співвідношення різних таксономічних груп мікроорганізмів у кишках. Інтенсивне їх розмноження починається з перших днів життя курчат. Проте вони можуть бути як корисними для організму, так і умовно-патогенними та навіть патогенними. Порушення певного співвідношення між цими групами призводить до дисбактеріозів і розладів травного тракту, що часто зустрічаються у молодняку. Тому за рахунок пробіотиків необхідно поповнювати кількість корисних мікроорганізмів, які мають виражену антагоністичну активність до патогенної мікрофлори. Це, без сумніву, справляє позитивний вплив на збереженість і продуктивність птиці [29, 36, 38, 72, 73, 230]. Тому селекція, розробка і впровадження пробіотичних препаратів є пріоритетним напрямом у ветеринарії всіх високорозвинутих країн з промисловим веденням птахівництва [113, 123, 171, 174-176, 179, 184, 218].

Птахівництво України нині забезпечено вітчизняними пробіотичними препаратами недостатньо. Пробіотики економічно вигідні за технологією їх виготовлення та застосування. Це одні з екологічно чистих препаратів, вони не призводять до звикання з боку патогенної мікрофлори, не нагромаджуються в органах і тканинах, нешкідливі для людини та навколишнього середовища. Виходячи з цього, перспективною є розробка нових пробіотиків для застосування у птахівництві з метою підвищення продуктивності птиці та попередження захворювань, які негативно впливають на збереженість поголів'я і якість продукції в цілому.

2. ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА І ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційна робота виконана у 2011–2015 рр. Експериментальні дослідження проведено на білих мишах та курчатах-бройлерах кросу Cobb-500. Науково-господарські досліди, апробація та впровадження результатів досліджень виконані в навчально-науково-дослідному центрі Білоцерківського національного аграрного університету, в умовах господарства ТОВ “Агрокомплекс” м. Біла Церква Київської області. Сертифікацію та реєстрацію нормативно-технічної документації (ТУ У) на пробіотичні добавки Лактокас та Пробіфід проводили в Українському державному підприємстві стандартизації, сертифікації, метрології та захисту прав споживачів Держспоживстандарту України.

Експериментальна частина щодо відбору потенційно пробіотичних штамів бактерій, вивчення властивостей, мікробіологічні дослідження виконано в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Державному науково-дослідному інституті (ДНДКІ) ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів. Дослідження проводили за схемою (рис. 2.1).

Перший етап досліджень – відбір штамів лакто- та біфідобактерій з антибактеріальними та імуномодулювальними властивостями з метою створення пробіотичних кормових добавок з імуномодулювальними властивостями. Для вирішення поставлених завдань були виконані дослідження, які проводили спільно з Інститутом мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. У роботі використовували штами *Lactobacillus acidophilus* ІМВ-7279, *Bifidobacterium animalis* VKB, *Lactobacillus casei* ІМВ В-7280, *Bifidobacterium animalis* VKL, які одержували з колекції Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Життєздатність пробіотичних культур перевіряли шляхом контролю їх росту на середовищах: лактобацил – Man-Rogosa-Sharpe-agar (MRSA),

біфідобактерій – Bifido Agar (BA) («Merck», Німеччина) за 37° С протягом 24 год. Дослідження на тваринах здійснювали відповідно до документів, які регламентують організацію робіт з використанням експериментальних тварин і дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) та ст. 26 Закону України № 5456-VI від 16.10.2012 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

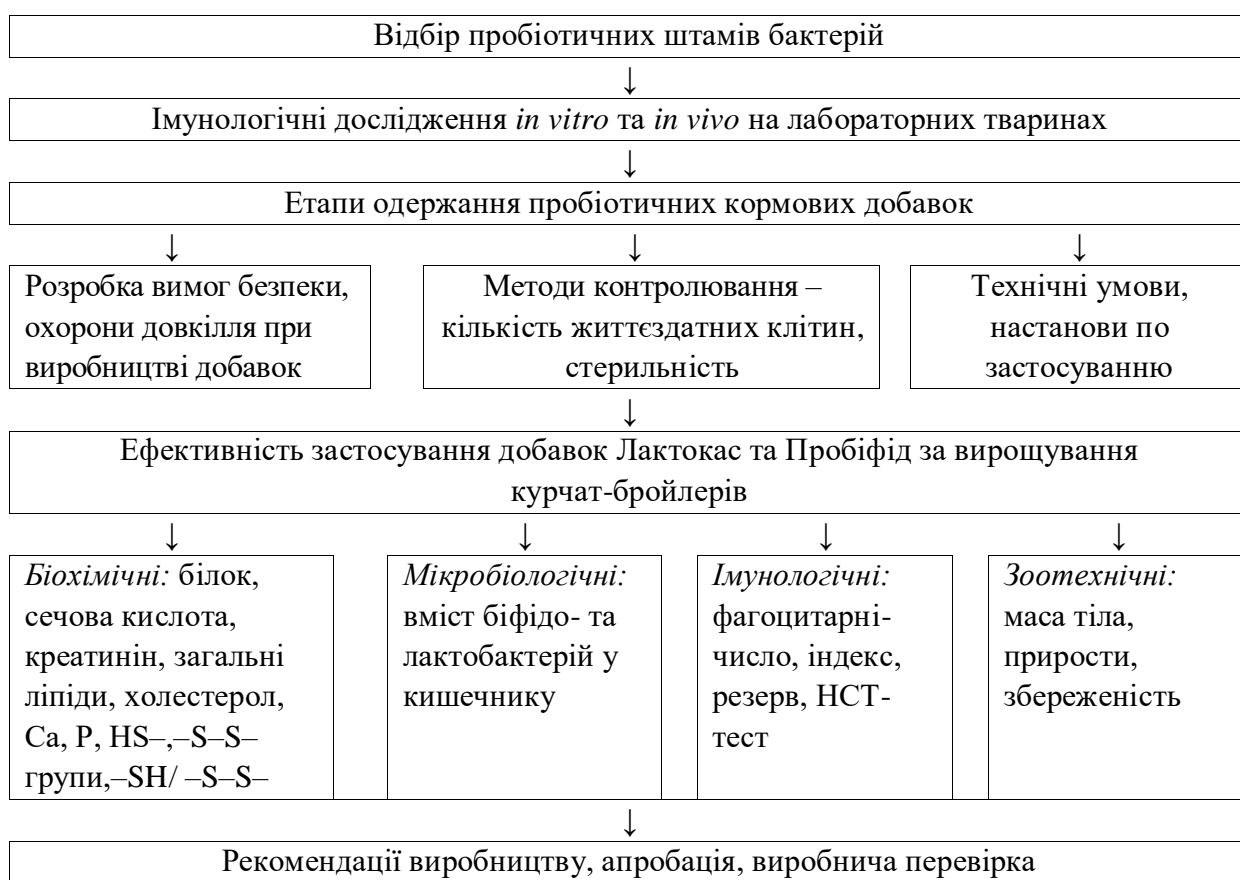


Рис. 1.2. Загальна схема досліджень

Імунологічні дослідження проведено на мишах лінії BaLb/c масою 15–18 г, віком 12 тижнів [44]. Штами бактерій (кожний окремо) у фізіологічному розчині вводили мишам per os упродовж 7 діб один раз на добу.

На 6 годину, першу, третю, шосту та дванадцяту добу від початку введення препаратів від декапітованих мишей, які попередньо отримували

повну анестезію, відбирали кров [48], селезінку [53] та перитонеальний ексудат [86, 98].

Поглиналину здатність перитонеальних макрофагів мишей вивчали у мікроскопічному тесті. Визначали показник фагоцитозу (ПФ), фагоцитарне число (ФЧ), функціональний резерв (ФР) фагоцитів (у %) та киснезалежну бактерицидність фагоцитів за допомогою відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест) (Модзолевський А.Ф., 1994). Досліджували продукцію інтерферону- α імунними клітинами (лейкоцитами периферичної крові, клітинами селезінки) *in vitro* у відповідь на адекватну індукцію індуктором інтерферону – ридостином, визначали спонтанну та індуквану продукцію інтерферону. Активність інтерферону досліджували загальноприйнятим методом з використанням культури фібробластів мишей, в яку вносили вірус везикулярного стоматиту в дозі 100 ТЦД₅₀/0,1 мл та визначали титр інтерферону, за якого спостерігали 50 % захист клітин від цитопатичної дії вірусу (Модзолевський А.Ф., 1994).

Другим етапом досліджень було одержання пробіотичних добавок на основі відібраних штамів біфідо- та лактобактерій – Лактокас та Пробіфід. Це пробіотичні добавки для птиці, до складу яких входять ліофільно висушені штами *Lactobacillus casei* ІМВ В-7280 та *Bifidobacterium animalis* VKB.

Для вирощування штамів використовували середовища: штам *L. casei* ІМВ В-7280 вирощують при $38,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ протягом 18-24 год. на середовищі МРС або посівних середовищах №1,2.

Склад середовища МРС: пептон – 10 г/л, м'ясна вода – 100 мл, дріжджовий екстракт – 10 г/л, глюкоза – 20 г/л, K_2HPO_4 – 2 г/л, ацетат Na – 5 г/л, амоній цитрат – 2 г/л, магнію сульфат – 0,2 г/л, мангану сульфат – 0,05 г/л, твин-80 – 1 мл, вода дистильована – до 1 л. рН стерилізації дорівнює 6,6-6,8 (після стерилізації – 6,2-6,6). Для отримання більш щільного середовища МРС добавляють 2 % агару. Можливо вирощувати штам на середовищі без твину-80.

Модифіковане середовище МРС: в 200 мл дистильованої води розчиняють 0,05 г Мангану сульфат, 0,2 г Магнію сульфат, 0,2 г цистеїну, 2 г K_2HPO_4 , 2 г цитрату амонію, 5 г ацетату Na, 20 г глюкози, 10 г пептону. Додають 1 мл твину-80 (розчиненого в невеликій кількості гарячої дистильованої води), 50 мл дріжджового автолізу, по 100 мл екстракту печінки та м'ясного екстракту. Об'єм рідини доводять дистильованою водою до 500 мл та добавляють 500 мл гідролізованого молока, рН дорівнює 6,2-6,8. Середовище фільтрують та стерилізують.

Склад посівного середовища №1 (г/л): ферментаційний гідролізат харчових дріжджів – 100 мг/мл NH_2^+ ; сахароза – 10,0; CH_3COONa – 7,5; K_2HPO_4 – 3,0; $MgSO_4$ – 0,5; рН середовища до стерилізування дорівнює 6,5–6,8, дистильована вода добавляється до 1 л.

Склад посівного середовища №2 (г/л): ферментаційний гідролізат соєвого шроту або муки -1 л; NH_2^+ – 0,5 мг/мл; дріжджовий екстракт -2,0; $NaCl$ – 3,0; K_2HPO_4 – 2,2; KH_2PO_4 – 1,7; $MgSO_4$ – 0,12; глюкоза – 5,0; рН дорівнює 6,7-6,8 (до стерилізації).

Штам *Bifidobacterium animalis* вирощується на середовищах «Біфідум», Блаурока або модифікованому середовищі МРС.

Розроблено вимоги безпеки, охорони довкілля за виробництва кормових добавок, методи контролювання – кількість життєздатних клітин, стерильність. Затверджено та зареєстровано нормативно-технічну документацію на пробіотичні кормові добавки Лактокас та Пробіфід, Технічні умови [45, 77], настанови по застосуванню.

У наступній – 3-й серії досліджень проведено науково-господарські експерименти на курчатах-бройлерах кросу Cobb-500 і визначено ефективність застосування пробіотичних добавок окремо та в комплексі, їх вплив на продуктивність і збереженість птиці. Експериментальну частину досліджень виконано в умовах віварію БНАУ.

Для першого науково-господарського дослідження матеріалом слугували курчата-бройлери кросу “Cobb-500”, які були відібрані в добовому віці у

кількості 400 голів, яких розділили за принципом аналогів на 4 групи – контрольну та 3 дослідних по 100 голів у кожній (табл. 2.1). Дослід тривав 42 доби. Пробиотичні добавки згодовували у складі комбікорму упродовж усього періоду вирощування: бройлерам 1-ї та 2-ї дослідних груп пробиотики Лактокас та Пробіфід в дозі, відповідно, 0,4 та 0,5 г/кг корму; 3-ї дослідної – комплекс цих препаратів, а птиці контрольної групи згодовували комбікорм без пробиотиків. Утримання птиці було підлогове з вільним доступом до корму та води. При введення пробиотичних добавок до комбікорму використовували метод вагового дозування та багатоступеневого змішування.

Таблиця 2.1

Схема першого науково-господарського досліді на курчатах-бройлерах

| Група | Кількість голів | Характер годівлі |
|--------------|-----------------|---|
| 1 контрольна | 100 | ПК(повнораціонний комбікорм) |
| 2 дослідна | 100 | ПК+Лактокас (0,4г/кг) |
| 3 дослідна | 100 | ПК+Пробіфід (0,5г/кг) |
| 4 дослідна | 100 | ПК+Лактокас+ Пробіфід (0,4г/кг+0,5г/кг) |

Для проведення другого науково-господарського досліді було відібрано 400 голів добових курчат-бройлерів, з яких за принципом аналогів сформували 2 групи, по 100 голів у кожній (табл. 2.2).

Дослідження виконували в умовах навчально-науково-дослідного центру БНАУ на курчат-бройлерах кросу «Cobb-500». Добавки згодовували з кормом упродовж усього періоду вирощування: 1 група птиці слугувала контролем і отримувала стандартний раціон, 2 – отримувала комплекс пробиотиків Лактокас та Пробіфід у дозі, відповідно, 0,4 та 0,5 г/кг корму.

Таблиця 2.2

Схема другого науково-господарського дослідження на курчатах-бройлерах

| Група | Кількість голів | Характер годівлі |
|--------------|-----------------|---|
| 1 контрольна | 100 | ПК(повнораціонний комбікорм) |
| 2 дослідна | 100 | ПК+Лактокас+ Пробіфід (0,4г/кг+0,5г/кг) |

У другому досліді на курчатах-бройлерах брали дозировку кормових пробіотичних добавок для 2-ї дослідної групи –Лактокас та Пробіфід (0,4г/кг+0,5г/кг), яка показала найкращу ефективність її використання в першому науково-господарському досліді.

У період дослідження проводили облік збереженості поголів'я, споживання кормів, розраховували витрати комбікорму на 1 кг приросту живої маси. Інтенсивність росту курчат-бройлерів визначали щотижня шляхом зважування, яке проводили вранці до годівлі.

Досліджували вплив комплексу пробіотиків на біохімічні, імунологічні показники, продуктивність і збереженість птиці та якість отриманої продукції.

Контрольний забій дослідних курчат проводили відповідно до ДСТУ 3136-95 [79]. Маса продуктів забою встановлювали зважуванням на терезах ВНЦ та ВЛТК-500.

Мікрофлору кишкового тракту птиці тестували, висіваючи проби на селективні середовища. Виділення та ідентифікацію мікроорганізмів проводили за багатоступеневою системою, яка включала виділення чистої культури, вивчення культуральних, морфологічних, тинкторіальних та біохімічних властивостей культур. Для проведення мікробіологічних досліджень відбирали проби вмісту різних відділів кишечника курчат-

бройлерів. У 1 г вмісту кишок визначали кількість *E. coli*, лакто- та біфідобактерій [94].

Для цього послідовні десятикратні розведення матеріалу висівали на поживні середовища. Мікрофлору шлунково-кишкового тракту курей тестували, висіваючи проби на відповідні селективні середовища: *Lactobacillus* — МРС агар; *Bifidobacterium* — тіогліколеве. У 1 г вмісту кишок визначали кількість *E. coli*, лакто- та біфідобактерій. Розрахунки кількісного складу бактерій досліджуваних проб проводили, застосовуючи логарифми, визначали вміст мікроорганізмів у мікробіоценозі відділів кишечнику курчат-бройлерів різних вікових груп.

Кількість мікроорганізмів в 1 г вихідного матеріалу (С) розраховували за формулою $C=N : V \cdot K$,

де N – середня кількість колоній в одній чашці;

V – об'єм суспензії, яку вносять під час посіву;

K – кратність розведення.

Анатомічне розбирання тушок проводили з урахуванням маси непатраної, напівпатраної і патраної тушок. Економічну оцінку ефективності визначали за собівартістю продукції та рентабельністю вирощування курчат-бройлерів.

Гематологічні показники визначали за стандартними методиками (Левченко В.І. та ін., 2004), біохімічні – визначали в науково-дослідній лабораторії діагностики хвороб тварин Білоцерківського національного аграрного університету за допомогою наборів «Філісіт-Діагностика» (Україна): активність аспаратамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1) й аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2) – методом Райтмана-Френкеля; вміст триацилгліцеролів – методом Флетчера; вміст альбуміну, загального білка – біуретовим методом; креатиніну – за реакцією Яффе; сечової кислоти – з фосфорно-вольфрамовим реагентом; загальний холестерол – методом Ілька [30, 34, 57, 88]. Редокс-потенціал тіолової системи антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом відновлених та

окиснених тіолових груп (HS-груп і –SS–зв'язків) та їх відношенням у крові [4, 66]. Досліджували активність киснезалежного метаболізму нейтрофілів крові гістохімічним методом, за даними спонтанного і стимульованого тесту з нітросинім тетразолієм (НСТ-тест) за В. Park et al. у модифікації Ю.І. Бажори та співавт [70]. Результати тесту оцінювали за часткою формазанпозитивних клітин у пробі (%).

Органолептичні дослідження м'яса бройлерів проводили відповідно до вимог ДСТУ 3143–95 [50]. Кислотність (рН) екстракту м'язів визначали іонометричним методом, реакцію на пероксидазу та біохімічні дослідження м'яса бройлерів (вміст триптофану та оксипроліну) здійснювали загальноприйнятими методами [2].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel. Вірогідність різниці між показниками оцінювали з урахуванням t-критерію Стьюдента [33, 46].

3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Створення групи новітніх біотехнологічних препаратів – імунобіотиків – на основі попередньо відібраних і охарактеризованих представників нормальної мікрофлори людини, зокрема штамів лакто- та біфідобактерій, є важливою проблемою сучасної біотехнології [1].

Ефективність застосування пробіотиків у тваринництві та птахівництві, головним чином, залежить від мікроорганізмів, які входять до складу пробіотика або комплексу пробіотиків. За відсутності систематизованого підходу з виділення та підбору пробіотичних штамів з визначенням біологічних властивостей та з конкретної рекомендації щодо застосування, важливою є розробка методологічних підходів щодо оцінювання біологічних властивостей мікроорганізмів, які будуть використані за конструювання пробіотиків [71].

В останні десятиліття розробляються нові науково обґрунтовані підходи до створення пробіотиків на основі лакто- та біфідобактерій й меншою мірою інших представників нормофлори людини та тварин, які мають високу антагоністичну активність щодо патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, а також здатність до тимчасової колонізації епітелію, що створює в екосистемі сприятливі умови для відновлення індигенної фізіологічної флори та її активності. Водночас велику увагу приділяють пошуку пробіотичних штамів бактерій з імуномодулювальними властивостями, які регулюють розвиток імунної відповіді за рахунок балансування продукції цитокінів Th1/Th2 типів [191, 202].

Однак лише невелика кількість пробіотичних штамів, що знаходяться в науково-дослідних лабораторіях, і одиниці готових форм пробіотичних препаратів здатні балансувати імунну відповідь, у першу чергу, за рахунок регуляції синтезу імунорегуляторних цитокінів, індукції

експресії TLR-NF- κ B та деяких CD-антигенів, які регулюють баланс цитокінів Th1/Th2 шляхів імунної відповіді [191, 209].

Однією з головних причин відходу молодняку тварин та птиці є захворювання, пов'язані з порушенням діяльності шлунково-кишкового тракту, збудниками яких є патогенна мікрофлора. Однак широке застосування хімічних препаратів різного походження, у тому числі новітніх антибіотиків, призвело до штучного формування резервуарів умовно-патогенної мікрофлори з множинною антибіотикорезистентністю, а також до зміни тяжкості і ступеня розповсюдження інфекційних захворювань.

Крім того, дисфункція імунної системи, яка може виникати внаслідок зміни екології, широкого застосування новітніх хімічних препаратів різної природи, порушення нормальної мікрофлори тощо також є однією із найважливіших причин підвищення агресивності умовно-патогенних коменсальних мікроорганізмів з подальшим розвитком інфекційно-запальних хвороб [1].

Останніми роками особливу увагу спрямовано на вивчення механізмів модулювального впливу лактобактерій на імунні реакції організму. Асоційованим із слизовою оболонкою кишечника лактобактеріям властиві універсальні імуномодулювальні властивості, що включають як імуностимуляцію, так і імуносупресію [6]. Відомо, що ключовим елементом вродженого імунітету є клітини фагоцитарної системи, які чинять значну дію на формування специфічної імунної відповіді – клітинної та гуморальної ланок імунітету. Через активацію фагоцитів пробіотичні штами молочнокислих бактерій можуть впливати послідовно на розвиток як вродженого, так і набутого імунітету.

Використання у птахівництві України імуотропних препаратів для попередження імунодефіцитного та імуносупресивного стану організму, що виникають у птиці раннього віку через низьку природну резистентність і несформованість факторів імунного захисту на тлі

щеплення, потребує наукового обґрунтування. Більшість досліджень такого плану присвячена вивченню впливу пробіотиків на організм птиці з метою підвищення його функціональної активності, життєздатності та продуктивних показників [3, 5, 7-10, 20]. Що ж стосується імуномодуляторів, то таких досліджень на птиці проведено значно менше.

Результати експериментальних досліджень, одержані в останні роки, показують, що під впливом пробіотичних препаратів спостерігали відновлення імунного статусу, підвищення фагоцитарної активності моноцитів, нейтрофілів та макрофагів [15, 22].

Тому актуальною є розробка альтернативних методів профілактики та лікування інфекційно-запальних захворювань тварин, які передбачають використання препаратів природного походження, що мають ефективну антагоністичну дію стосовно збудників інфекційних хвороб і здатність балансувати імунну відповідь. Такими препаратами є новітні пробіотики, створені на основі представників нормальної коменсальної мікрофлори – непатогенних молочнокислих бактерій з антибактеріальними та імуномодулювальними властивостями [1, 22].

3.1. Скринінг штамів лакто- та біфідобактерій з метою створення пробіотичних добавок з поліфункціональними властивостями

Розробка пробіотичних препаратів на основі молочнокислих бактерій для використання у ветеринарній медицині, за визначенням деяких авторів [27, 101], має певні труднощі, пов'язані з недостатнім рівнем розвитку біотехнології для потреб агропромислового комплексу, відсутністю бази для наукових досліджень у дрібнотоварних виробників та доступністю штамів з промислових колекцій мікроорганізмів і створення на їх основі препаратів для ветеринарії та тваринництва, що не завжди є прийнятним [100].

Загально визнаними тестами для відбору штамів пробіотичних препаратів для тварин є: джерело виділення (від тварин); високий колонізаційний потенціал (адгезивність); резистентність до низьких значень рН, жовчних кислот; кислотоутворення, продукція антимікробних субстанцій (антагоністична активність, продукція перекису, лізоциму); стабільність характеристик у клінічному і технологічному планах; висока швидкість розмноження [11, 28].

Основні міжнародні вимоги під час тестування пробіотиків *in vitro* включають: стійкість до кислотних умов середовища шлунково-кишкового тракту, стійкість до солей жовчних кислот, адгезивні властивості, здатність зниження адгезивної активності патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, антимікробна (антагоністична) активність до потенційних патогенних бактерій [215].

Відібрані штами *L. casei* MBV-7280, *L. acidophilus* MB V-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB є потенційно пробіотичними, тобто більшість вказаних характеристик для них були досліджені [209, 211], але, відповідно до сучасних уявлень, одним із біотехнологічних критеріїв оцінки мікроорганізмів та встановлення параметрів, необхідних для визнання статусу пробіотичного штаму, є їх здатність до підвищення неспецифічної клітинної імунної відповіді, яка характеризується активацією макрофагів, і до стимулювання антигенспецифічних механізмів захисту, основою яких є індукція ендogenous інтерферону (ІФН) та інших цитокінів. Серед обраних мікроорганізмів проводили пошук найефективніших штамів лакто- та біфідобактерій, яким притаманна властивість імунобіотиків.

Штами *L. casei* MBV V-7280, *L. acidophilus* MBV V-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB отримано із асоційованої культури під час лабораторних досліджень ферментованого біологічного матеріалу. Штами *L. casei* MBV V-7280, *L. acidophilus* MBV V-7219 депоновано в Українській

колекції мікроорганізмів в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

L. acidophilus IMB B-7279 є грампозитивним, факультативно анаеробним мікробом. Це – нерухливі палички, які не утворюють спор. Штам не росте в аеробних умовах, зберігає життєздатність на середовищах з широким діапазоном рН – від 2,5 до 8,5, але оптимальним є значення, яке дорівнює 5,5–6,5. Зберігає життєздатність на середовищі в присутності холестерину, жовчі, шлункового соку, травних ферментів та фенолу.

Штам *L. casei* IMB B-7280 – це нерухомі, грампозитивні бактерії, які не утворюють спор. Є факультативним анаеробом, не містить каталази. Зберігає життєздатність на середовищах з широким діапазоном рН від 1,0 до 8,5; Оптимальним рН для початку росту є 5,5 – 6,5. Зберігає життєздатність на середовищах у присутності жовчі, холестерину, шлункового соку, ферментів травлення, фенолу.

Штам *B. animalis* VKL є грампозитивним, анаероб. Це подовжені тонкі палички, каталазонегативні. Зброджує арабінозу, фруктозу, галактозу, глюкозу, лактозу, мальтозу, манозу, мелецитозу, мелібіозу, рафінозу, рамному, рибозу, сахарозу та ксилілозу. Утворює молочну та оцтову кислоти. Не утворює CO₂; а також масляну та пропіонову кислоти. Водночас цей штам не зброджує інулін, целобіозу, глюконат, маніт, саліцин, сорбіт, трегалозу та крохмаль.

Штам *B. animalis* VKB – грампозитивний, анаероб, зброджує фруктозу, глюкозу, лактозу та целобіозу. Утворює оцтову та молочну кислоти. Не утворює CO₂, масляну та пропіонову кислоти.

3.2. Дослідження показників функціонально-метаболічної активності макрофагів перитонеальної порожнини мишей

Нашими дослідженнями встановлено, що введення мишам *B. animalis* VKL, *B. animalis* VKB, *L. acidophilus* IMB B-7279, *L. casei* IMB B-7280

супроводжувалось активацією киснезалежної бактерицидної активності макрофагів перитонеальної порожнини мишей на першу добу, що підтверджувалося вірогідним зростанням кількості НСТ-позитивних клітин (рис. 3.1). Підвищення показників НСТ-тесту макрофагів спостерігали на 6 добу під впливом *B. animalis* VKL, *B. animalis* VKB або *L. acidophilus* IMB B-7279 та на 12 –у під впливом *B. animalis* VKL.

Доведено, що пробіотичні штами *B. animalis* VKB, *B. animalis* VKL, *L. acidophilus* IMB B-7279, *L. casei* IMB B-7280 ефективно підвищували поглинальну активність макрофагів перитонеальної порожнини мишей: під впливом *B. animalis* VKB вірогідно зростає показник фагоцитозу макрофагів на 1, 6 та 12 доби, спостерігали підвищення фагоцитарного числа на 6 добу після введення мишам *L. casei* IMB ($p < 0,05$) та на 12-ту добу після введення *B. animalis* VKL ($p < 0,01$), *L. acidophilus* IMB B-7279 ($p < 0,05$), *L. casei* IMB B-7280 ($p < 0,01$).

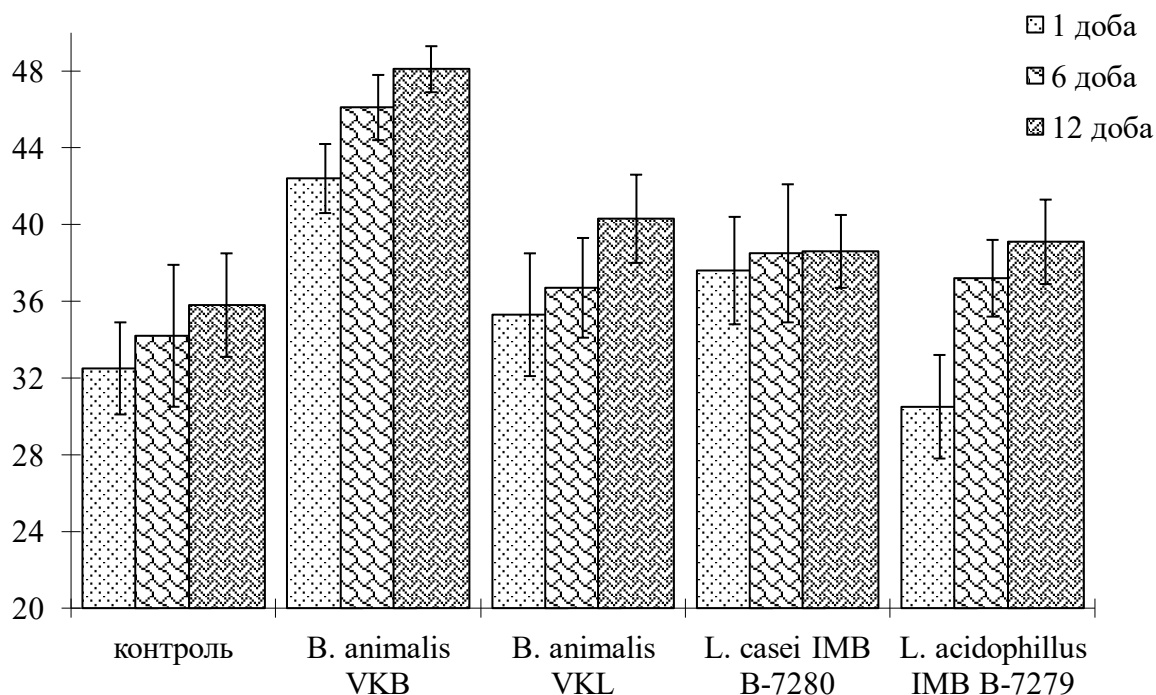


Рис. 3.1. Показник фагоцитозу МФП на 1 добу введення пробіотиків, $M \pm m$, $n=4$.

Під впливом *B. animalis* VKB спостерігали підвищення поглинальної активності макрофагів за ПФ та ФЧ на третю та шосту доби (рис. 3.2). В

інші терміни спостереження після введення мишам цього препарату поглинальна активність макрофагів зберігалась на рівні контролю. Водночас на третю, шосту та дев'яту доби активувалась здатність макрофагів до накопичення реактогенних метаболітів кисню за показниками спонтанного НСТ-тесту. На шосту та дев'яту доби встановлено тенденцію до збільшення їх ФР, але різниця порівняно з показниками контролю, була невірною.

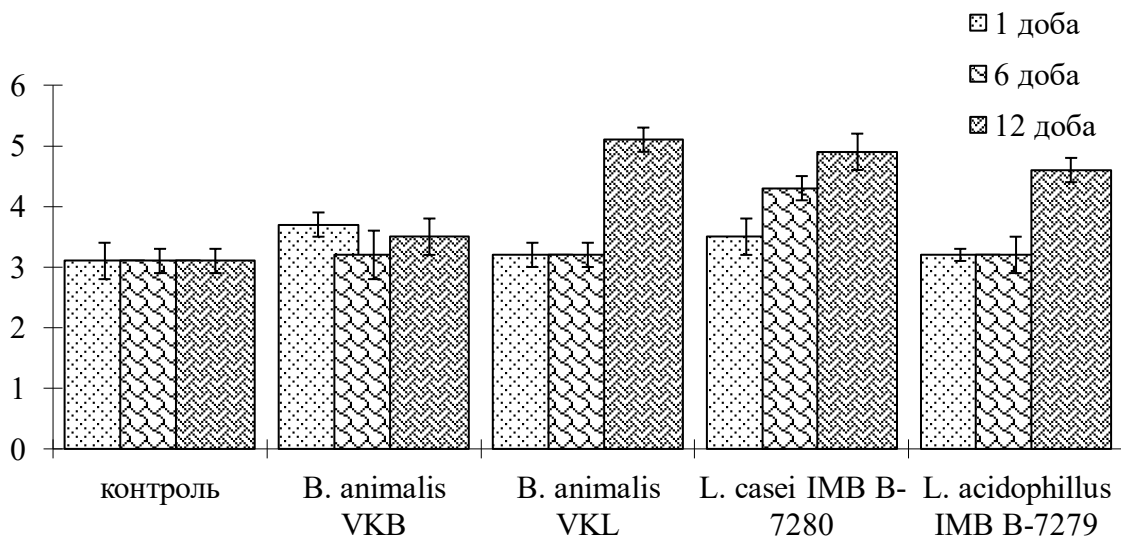


Рис. 3.2. Фагоцитарне число МФПП мишей на 6 добу введення пробіотиків, $M \pm m$, $n=4$.

Останніми роками особливу увагу спрямовано на вивчення механізмів модульовального впливу лакто- та біфідобактерій на імунні реакції організму. Асоційованим із слизовою оболонкою кишечника лактобактеріям властиві універсальні імуномодульовальні властивості, що включають як імуностимуляцію, так і імуносупресію [6, 22]. Ключовим елементом вродженого імунітету є клітини фагоцитарної системи, які чинять значну дію на формування специфічної імунної відповіді – клітинної та гуморальної ланок імунітету. Через активацію фагоцитів пробіотичні штами молочнокислих бактерій можуть впливати послідовно на розвиток як вродженого, так і набутого імунітету [22, 225, 228].

Отже, встановлено, що різні штами бактерій підвищували функціональну активність клітин фагоцитарної системи у різні терміни

спостереження, активували як поглинальну активність макрофагів, так і їх киснезалежну бактерицидність, але з різною інтенсивністю (рис. 3.3).

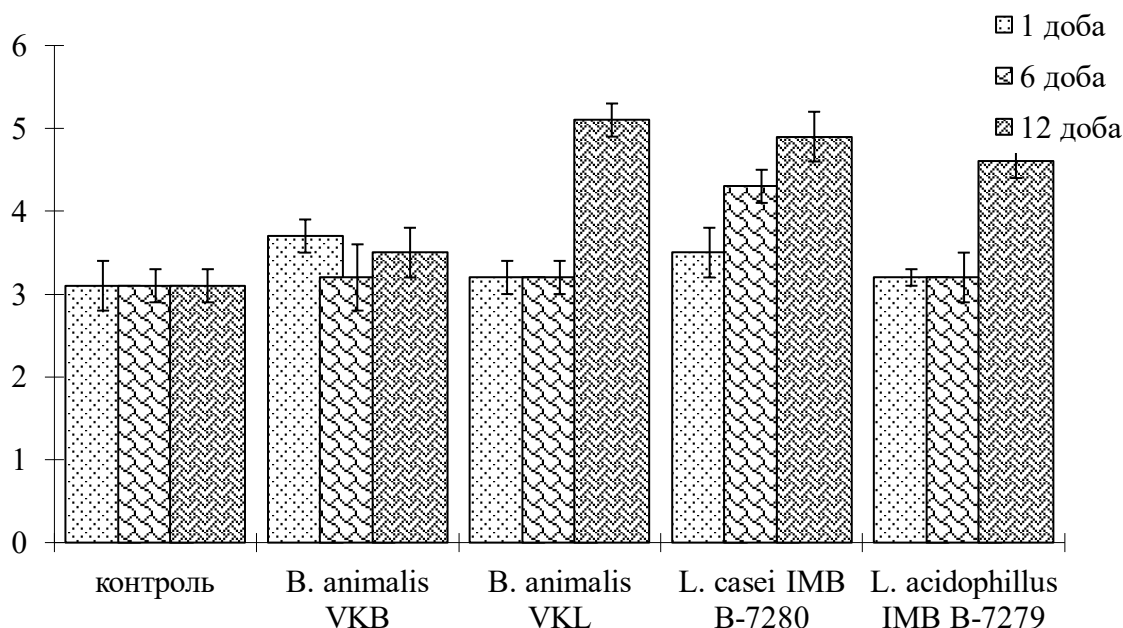


Рис. 3.3. Показники оксигенозалежного метаболізму макрофагів (НСТ-тест, спонтанний), $M \pm m$, $n=4$.

Таким чином, доведено, що усі пробіотичні штами – *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB під час введення інтактним мишам за умов фізіологічної норми посилювали функціональну активність клітин фагоцитарної системи (рис. 3.4).

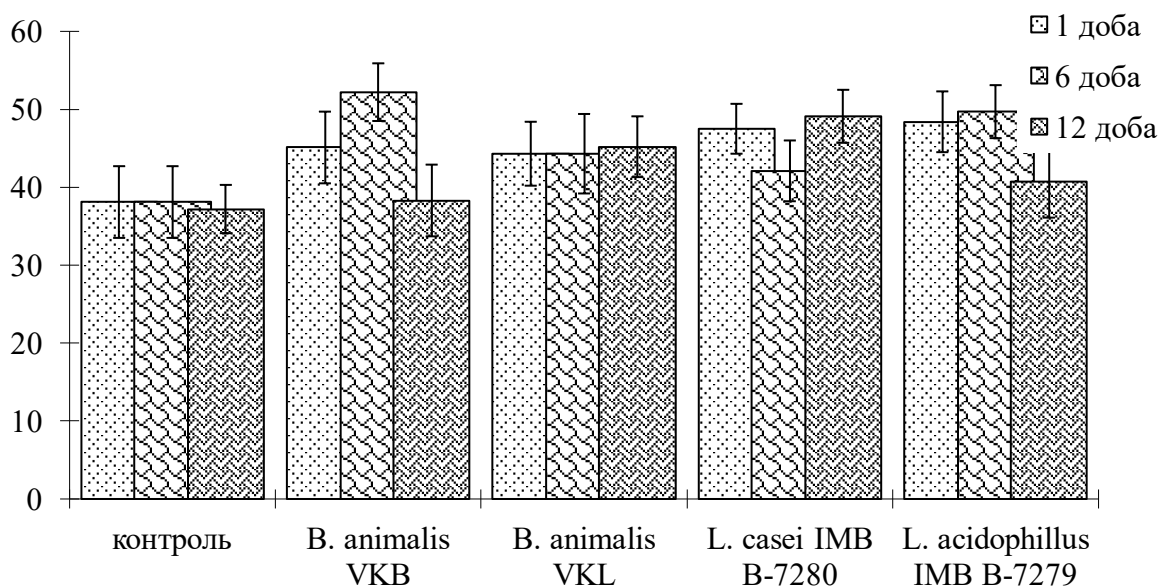


Рис. 3.4. Показники оксигенозалежного метаболізму макрофагів (НСТ-тест, стимульований), $M \pm m$, $n=4$.

Ці зміни супроводжувалися активацією киснезалежної бактерицидної активності макрофагів перитонеальної порожнини та підвищенням їх поглинальної активності.

3.3. Вплив нових пробіотичних штамів бактерій на продукцію інтерферону

Дисфункція імунної системи, яка виникає внаслідок зміни екології, широкого застосування новітніх хімічних препаратів різної природи, порушення нормальної мікрофлори тощо є однією із найважливіших причин підвищення агресивності умовно-патогенних комменсальних мікроорганізмів з подальшим розвитком інфекційно-запальних хвороб людини та тварин [104]. Одержання сучасних препаратів-імунобіотиків на основі представників нормальної мікрофлори, зокрема штамів лакто- та біфідобактерій, є важливою проблемою сучасної біотехнології [1, 215].

Дані літературних джерел свідчать, що імуномодулювальні властивості окремих культур лакто- та біфідобактерій суттєво відрізняються між собою, це є їх індивідуальною характеристикою. Створюючи препарати на основі лакто- та біфідобактерій з підвищеним рівнем імуномодулювальної активності – імунобіотики – доцільно забезпечити виконання всіх умов максимальної реалізації закладеного в цих бактеріях біологічного потенціалу [1, 204, 213,]. В останні роки особливу увагу спрямовано на вивчення механізмів модулювального впливу лактобактерій на імунні реакції організму. Асоційовані із слизовою оболонкою кишечника лактобактерії мають універсальні імуномодулювальні властивості, що включають як імуностимуляцію, так і імуносупресію [6, 196, 202]. Стимуляційні ефекти лактобактерій проявляються в механізмах активації ретикуло-ендотеліальної системи шлунково-кишкового тракту та продукції низки цитокінів, що забезпечують баланс між гуморальним та клітинно-опосередкованим

імунітетом [181,191]. Найважливішим механізмом взаємодії лактобактерій та взагалі представників облигатної мікрофлори з організмом хазяїна, що спрямовано на підтримку гомеостазу, є стимуляція продукції низки цитокінів [191,196]. Цитокіни поділяють на декілька груп: інтерлейкіни (ІЛ) – фактори взаємодії між лейкоцитами; інтерферони (ІФН) – цитокіни противірусної та імуномодулювальної активності; фактори некрозу пухлин (ФНП) – цитокіни з цитотоксичною активністю; колонієстимуляційні фактори (КСФ) – гемопоетичні цитокіни та хемокіни (ХК) – хемотаксичні цитокіни [63, 191].

Відомо, що антибактеріальна дія пробіотичних штамів лакто- та біфідобактерій *in vivo* опосередковано пов'язана з їхніми імуномодулювальними властивостями. Встановлено [1, 87, 191], що з розвитком ефективної імунної відповіді на стафілокок відбувається активація як клітинної, так і гуморальної ланок імунітету, оскільки в патогенезі захворювань, спричинених стафілококами, певну роль відіграють як бактеріальні клітини, так і їх екзотоксини. Тому далі проводили дослідження інтактних мишей, які отримували штами лакто- та біфідобактерій.

Встановлено, що введення мишам добавок лакто- або біфідобактерій приводило до стимуляції інтерферогенезу (рис. 3.5). Однак інтенсивність та динаміка інтерфероутворення суттєво різнилися залежно від штаму бактерій. Значне накопичення інтерферону (ІФН- α) у сироватці крові за впливу *L. acidophilus* ІМВ В-7279 та *B. animalis* VKL спостерігали вже через 6 год: титри інтерферону вірогідно підвищувалися ($p < 0,05$). Високий рівень сироваткового інтерферону залишався на 1 та 6 доби ($9,02 \pm 0,03$ та $8,14 \pm 0,02 \log_2$ Од/см³). У мишей, які отримували *L. acidophilus* ІМВ В-7279, концентрація цього цитокіну у сироватці крові виявилась підвищеною і на 12 добу ($6,75 \pm 0,02 \log_2$ Од/см³). Водночас після

введення мишам *B. animalis* VKL титри інтерферону на 12 добу знижувалися до рівня контролю.

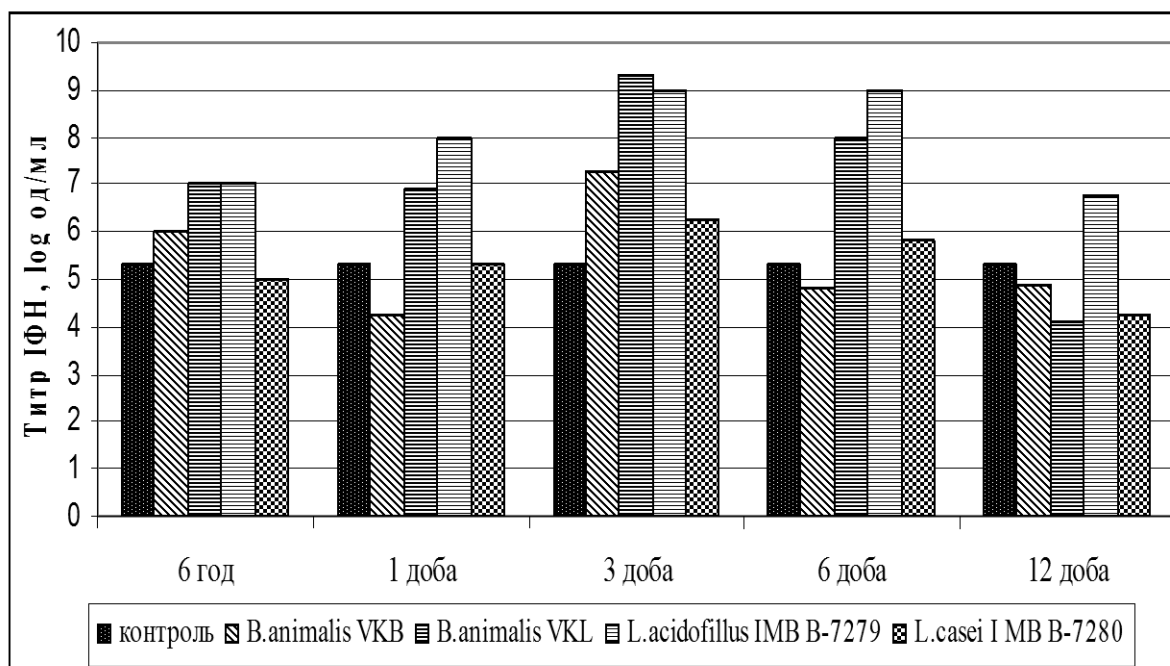


Рис. 3.5. Вміст сироваткового інтерферону після введення мишам пробіотичних штамів бактерій.

Після введення мишам *B. animalis* VKB титри сироваткового інтерферону не змінювалися через 6 год та на 1 добу, але підвищувалися на 3 ($p < 0,05$). На 6 та 12 доби титри інтерферону знижувалися до рівня контролю. Отримані результати свідчать, що досліджувані штами *L. acidophilus* IMB B-7279 та *B. animalis* VKB, *L. casei* IMB B-7280 виявились ефективними індукторами інтерферону, але в різні періоди.

Дослідженнями спонтанної продукції інтерферону клітинами селезінки встановлено, що за введення *B. animalis* VKL спостерігали підвищення здатності спленоцитів до продукції інтерферону *in vitro*. Спленоцити, отримані за 1 добу, спонтанно продукували інтерферон у титрах $7,10 \pm 0,01 \log_2$ Од/см³ проти $5,08 \pm 0,01 \log_2$ Од/см³ ($p < 0,001$) у контролі. На 3 та 6 доби встановлено тенденцію до підвищення рівня спонтанної продукції інтерферону, однак різниця з контролем не була вірогідною. Титри інтерферону у супернатантах нестимульованих

спленоцитів, отриманих на 12-у добу після введення мишам *B. animalis* VKL, зберігалися на рівні контролю ($4,15 \pm 0,01 \log_2$ Од/см³).

Водночас за впливу *B. animalis* VKB встановлено зниження здатності до спонтанної продукції інтерферону у спленоцитів, отриманих на 3 та 6 доби після введення. Титри інтерферону у супернатантах нестимульованих спленоцитів, отриманих на 1 та 12 доби, вірогідно не відрізнялися від контрольних показників. Спонтанна продукція інтерферону клітинами селезінки *in vitro* зростала після введення мишам *L. acidophilus* ІМВ В-7279. На 1 добу титри інтерферону підвищувалися до $7,20 \pm 0,04 \log_2$ Од/см³ проти $5,34 \pm 0,02 \log_2$ Од/см³ ($p < 0,001$) у контролі. Проте, на 3, 6 та 12 доби вони вірогідно не відрізнялися від показників контролю. За впливу *L. casei* ІМВ В-7280 на 1 добу спонтанна продукція інтерферону спленоцитами *in vitro* зростала в 1,4 раза. На 3, 6 та 12 доби після введення мишам *L. casei* ІМВ В-7280 спленоцити спонтанно продукували інтерферон у титрах, що не відрізнялися від показників контролю. Таким чином, після введення мишам *B. animalis* VKL та *L. acidophilus* ІМВ В-7279 на 1 добу суттєво підвищувалася здатність спленоцитів до спонтанної продукції інтерферону *in vitro*.

Спонтанна продукція інтерферону клітинами селезінки. Встановлено, що введення пробіотиків призводило до зміни інтерфероногенної активності клітин селезінки (рис. 3.6). За введення *B. animalis* VKL спостерігали підвищення здатності спленоцитів до продукції спонтанного інтерферону *in vitro*. Спленоцити, отримані на 1 добу, *in vitro* спонтанно продукували інтерферон у титрах $7,10 \pm 0,06 \log_2$ Од/мл проти $5,00 \pm 0,20 \log_2$ Од/мл ($P < 0,01$) у контролі. На 3 добу встановлено тенденцію до підвищення рівня спонтанної продукції інтерферону: титри складали, відповідно, $6,4 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл, однак різниця з контролем не була вірогідною. Титри інтерферону у супернатантах нестимульованих спленоцитів, отриманих на 12 добу після

введення мишам *B. animalis* VKL, зберігалися на рівні контролю ($4,8 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл).

Водночас за впливу *B. animalis* VKB встановлено зниження здатності до спонтанної продукції інтерферону у спленоцитів, отриманих на 3 та 6 доби після введення: титри дорівнювали відповідно $4,00 \pm 0,01$ та $3,00 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл, проти $6,00 \pm 0,01$ ($P < 0,01$) та $5,00 \pm 0,01$ ($P < 0,01$) \log_2 Од/мл у контролі. Титри інтерферону у супернатантах нестимульованих спленоцитів, отриманих на 1 та 12 доби, вірогідно не відрізнялись від контрольних показників, відповідно $4,8 \pm 0,01$ та $3,9 \pm 0,02 \log_2$ Од/мл; у контролі – $5,00 \pm 0,01$ та $4,00 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл.

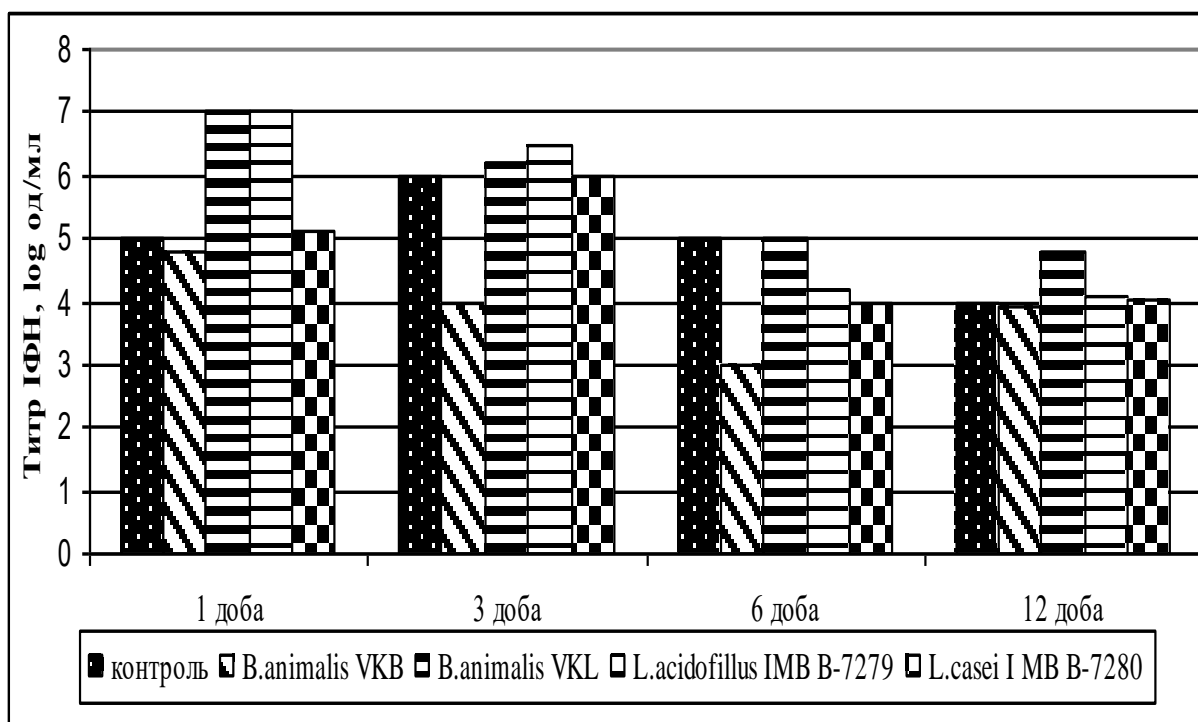


Рис. 3.6. Спонтанна продукція інтерферону *in vitro* клітинами селезінки інтактних мишей, які отримували пробіотичні штами бактерій.

Спонтанна продукція інтерферону клітинами селезінки *in vitro* зростала після введення мишам *L. acidophilus* IMB B-7279. На 1 добу титри інтерферону підвищувались до $7,00 \pm 0,04 \log_2$ Од/мл проти $5,00 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл ($P < 0,01$) у контролі. Проте на 3, 6 та 12 доби вони вірогідно не відрізнялись від показників контролю (відповідно $6,5 \pm 0,01$; $4,2 \pm 0,02$ та $4,1 \pm 0,02 \log_2$ Од/мл).

За впливу *L. casei* ІМВ В-7280 на 1 добу спонтанна продукція інтерферону спленоцитами *in vitro* незначно зростала ($5,30 \pm 0,06 \log_2$ Од/мл), однак різниця, порівняно з показниками контролю, виявилась невірогідною. На 3, 6 та 12 доби після введення мишам *L. casei* ІМВ В-7280 спленоцити спонтанно продукували інтерферон у титрах, відповідно, $6,00 \pm 0,01$; $4,10 \pm 0,02$ та $4,00 \pm 0,03 \log_2$ Од/мл, що не відрізнялись від показників контролю.

Отже, ефективними інтерфероногенами серед досліджуваних препаратів виявились *B. animalis* VKL та *L. acidophilus* ІМВ В-7279. Після введення мишам *B. animalis* VKL та *L. acidophilus* ІМВ В-7279 на 1 добу суттєво підвищувалась здатність спленоцитів до спонтанної продукції інтерферону *in vitro*. *B. animalis* VKB, *L. casei* ІМВ В-7280 після введення мишам не впливали на спонтанну продукцію інтерферону спленоцитами *in vitro*.

Продукція інтерферону- α індукованими клітинами селезінки. Введення мишам препаратів супроводжувалося зміною здатності клітин селезінки до продукції інтерферону- α *in vitro* під дією індуктора інтерферону ридостину (рис. 3.7).

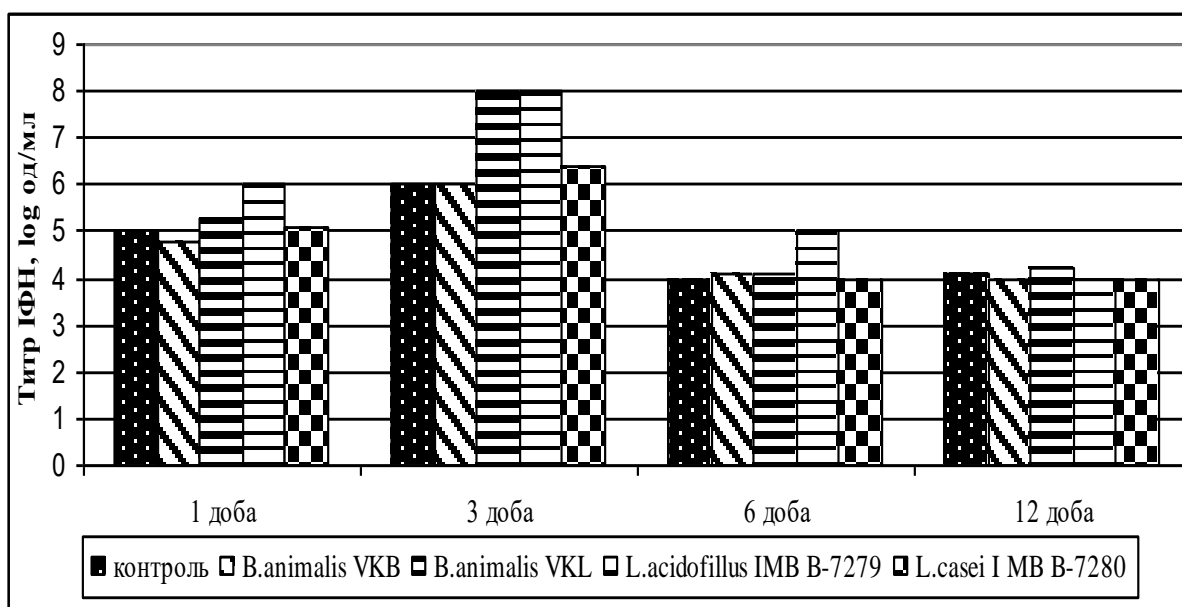


Рис. 3.7. Продукція інтерферону- α *in vitro* клітинами селезінки інтактних мишей, які отримували пробіотичні штами бактерій.

Встановлено, що продукція інтерферону- α активованими ридостином *in vitro* спленоцитами зростала під впливом *B. animalis* VKL. Виявлено тенденцію до підвищення титрів інтерферону- α у супернатантах стимульованих спленоцитів на 1 добу після його введення ($5,4 \pm 0,12 \log_2$ Од/мл; у контролі – $5,00 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл; $P > 0,05$). На 3 добу титри інтерферону- α зростали суттєво – до $8,05 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл проти $6,00 \pm 0,08 \log_2$ Од/мл ($P < 0,001$) у контролі. На 6 та 12 доби після введення мишам *B. animalis* VKL спленоцити продукували інтерферон- α на рівні контролю – у титрах, відповідно, $4,1 \pm 0,01$ та $4,3 \pm 0,18 \log_2$ Од/мл порівняно з $4,00 \pm 0,01$ та $4,1 \pm 0,02 \log_2$ Од/мл у контролі.

B. animalis VKB не впливав на продукцію інтерферону- α *in vitro* у відповідь на адекватну індукцію спленоцитами, отриманими на 1, 3, 6 та 12 доби після його введення: титри дорівнювали відповідно $4,8 \pm 0,01$; $6,05 \pm 0,02$; $4,1 \pm 0,02$ та $4,10 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл.

L. acidophilus IMB B-7279 підвищував здатність спленоцитів до продукції інтерферону *in vitro*. Після введення *L. acidophilus* IMB B-7279 на 1 добу спостерігали тенденцію до підвищення титрів інтерферону- α у супернатантах активованих спленоцитів ($6,05 \pm 0,36 \log_2$ Од/мл; у контролі $5,00 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл), тоді як на 3 добу вони зростали суттєво – до $8,00 \pm 0,23 \log_2$ Од/мл проти $6,00 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл ($P < 0,001$) у контролі. На 6 та 12 доби титри інтерферону- α зменшувались до рівня контрольних показників – до $5,06 \pm 0,09$ та $4,10 \pm 0,06 \log_2$ Од/мл відповідно.

За впливу *L. casei* IMB B-7280 продукція інтерферону- α клітинами селезінки *in vitro* на 1 добу вірогідно не змінювалась ($5,1 \pm 0,08 \log_2$ Од/мл), але незначно підвищувалась на 3 добу ($6,4 \pm 0,21 \log_2$ Од/мл; $P > 0,05$).

Титри інтерферону- α у супернатантах стимульованих спленоцитів не відрізнялись від показників контролю на 6 та 12 доби (відповідно $4,1 \pm 0,09$ та $4,00 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл).

Таким чином, доведено, що пробіотичні штами *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB за

інтрагастрального введення інтактним мишам у дозі 1×10^6 кл. на тварину один раз на добу протягом 7 діб проявляли імуномодулювальні властивості. Так, усі ці пробіотичні штами за умов фізіологічної норми у різні терміни спостереження посилювали інтерфероноутворення. Введення мишам *B. animalis* VKL, *L. acidophilus* IMB B-7279, *L. casei* IMB B-7280 призводило до підвищення здатності спленоцитів продукувати інтерферон- α *in vitro* у відповідь на адекватну індукцію ридостином на 1 та 3 доби.

Отже, досліджувані штами мікроорганізмів підвищують функціонально-метаболічну активність імунокомпетентних клітин *in vitro* та стимулюють інтерфероногенез, але не однаковою мірою.

Встановлено, що штам *L. casei* IMB B-7280 був ефективнішим індуктором продукції інтерферону, тоді як *Bifidobacterium animalis* VKB – більш ефективно активував ефекторні функції макрофагів.

Для вибору найбільш перспективних штамів мікроорганізмів, які придатні для створення ефективних пробіотичних добавок, необхідно враховувати поліфакторність їхньої дії, що залежить від штаму.

Принцип спрямованої імунокорекції з пробіотиків, насамперед, ґрунтується на тому, що структурні компоненти клітинних стінок лакто- і біфідобактерій здатні взаємодіяти з рецепторами розпізнавання образів, зокрема з TLR-рецепторів, які присутні на поверхні фагоцитарної системи клітин, що приводить до активації внутрішньоклітинних молекулярних каскадів, які стимулюють експресію багатьох генів імунної відповіді, результатом того є стимуляція виробництва різних імунорегуляторних цитокінів, залежно від типу активованого TLR-рецепторів [110, 191]. Різні штами лакто- і біфідобактерій здатні взаємодіяти з різними типами TLR-receptors і стимулювати синтез цитокінів різних груп, наприклад, Th1- і Th2-типу, про- та протизапальних [6, 22, 122]. Можливість регулювати баланс між Th1 / Th2 шляхів імунної відповіді з'являється в результаті цілеспрямованого впливу на ту чи іншу продукцію цитокінів. Вибір Th1-, або Th2-типу імунної відповіді залежить від багатьох факторів, серед яких

у першу чергу – активність антигенів, що представляють клітини (APC), і профіль цитокінів, які синтезуються в ранній стадії імунної відповіді. Зокрема, виробництво IL-12 з активованими макрофагами сприятиме диференціації Th0-клітин у типі I Т-хелперів і розвитку імунітету, який відіграє ключову роль у захисті тіла від багатьох поширених інфекцій [191]. Таким чином, можна припустити, що за вибору штамів лакто- та біфідобактерій з потенціалом імуномодельовальних властивостей важливо досліджувати їх дію *in vitro* на фагоцитарну активність системи клітин і виробництво імунорегуляторних цитокінів.

Слід врахувати, що імуномодулювальна активність штамів може залежати від ступеня жорсткості (ригідності) їх клітинних стінок. Поєднання штамів з різним ступенем жорсткості клітинної стінки в одній композиції будуть корисні для створення препаратів з різною імуномодулювальною активністю [191]. За сукупністю показників, які характеризують багатофункціональність пробіотичних та метаболічних властивостей штамів, для одержання пробіотичних добавок нами обрано штами *L. casei* ІМВ В-7280 та *Bifidobacterium animalis* VKB.

3.4. Одержання пробіотичних добавок Пробіфід та Лактокас

У біотехнологічному процесі одержання пробіотичних добавок необхідно враховувати досягнення максимального виходу біомаси бактеріальних клітин, їх технологічність в умовах виробництва, стабільність у процесі культивування та збереження біологічних властивостей.

Штам *L. casei* ІМВ В-7280 – нерухомі, грампозитивні клітини, не утворюють спор. Штам вирощують при $38,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ протягом 18–24 год на середовищі МРС або посівних середовищах № 1, 2.

Склад середовища МРС: пептон – 10г/л, м'ясна вода – 100 мл, дріжджовий екстракт – 10г/л, глюкоза – 20, K_2HPO_4 – 2, ацетат Na – 5, амонію цитрат – 2, магнію сульфат – 0,2, мангану сульфат – 0,05 г/л, твин-80 – 1 мл, вода дистильована – до 1 л; рН стерилізації дорівнює 6,6-6,8 (після стерилізації – 6,2-6,6). Для отримання більш щільного середовища МРС добавляють 2 % агару. Можливо вирощувати штам на середовищі без твину-80.

Модифіковане середовище МРС: у 200 мл дистильованої води розчиняють 0,05 г мангану сульфату, 0,2 г магнію сульфату, 0,2 г цистеїну, 2 г K_2HPO_4 , 2 г цитрату амонію, 5 г ацетату Na, 20 г глюкози, 10 г пептону. Додають 1 мл твину-80 (розчиненого в невеликій кількості гарячої дистильованої води), 50 мл дріжджового автолізу, по 100 мл екстракту печінки та м'ясного екстракту. Об'єм рідини доводять дистильованою водою до 500 мл та добавляють 500 мл гідролізованого молока, рН дорівнює 6,2-6,8. Середовище фільтрують та стерилізують.

Склад посівного середовища №1 (г/л): ферментаційний гідролізат харчових дріжджів – 100 мг/мл NH_2^+ ; сахароза – 10,0; CH_3COONa – 7,5; K_2HPO_4 – 3,0; $MgSO_4$ – 0,5 мг/мл; рН середовища до стерилізації дорівнює 6,5-6,8, дистильована вода – до 1 л.

Склад посівного середовища №2 (г/л): ферментаційний гідролізат соєвого шроту або муки – 1 л; NH_2^+ – 0,5 мг/мл; дріжджовий екстракт – 2,0; NaCl – 3,0; K_2HPO_4 – 2,2; KH_2PO_4 – 1,7; $MgSO_4$ – 0,12; глюкоза – 5,0 мг/мл; рН дорівнює 6,7-6,8 (до стерилізації).

Штам *L. casei* IMB B-7280 вирощують за $38,0 \pm 1,0$ °С протягом 18-24 год на середовищі МРС або посівних середовищах № 1, 2.

Штам *Bifidobacterium animalis* вирощують за $38,0 \pm 1,0$ °С протягом 24-48 год на середовищах Біфідум, Блаурока або модифікованому середовищі МРС. Штами *B. animalis* VKB та *L. casei* IMB B-7280 зберігаються (2 роки і більше) в ліофільному стані. Захисне середовище

під час сублімаційного висушування: сахароза 10 %, желатин 1 %, рН $7,0 \pm 0,2$.

Розроблено, затверджено та зареєстровано нормативно-технічну документацію на пробіотичні кормові добавки Лактокас та Пробіфід, Технічні умови, вимоги безпеки, охорони довкілля під час виробництва кормових добавок, методи контролювання [45, 62, 77 та Додатки 1,2]. Добавки відповідають вимогам розроблених ТУ У і виготовляються за технологічним регламентом, затвердженим у встановленому порядку з дотриманням санітарних норм і правил, затверджених центральними органами виконавчої влади у сфері охорони здоров'я України. За органолептичними, фізико-хімічними та біологічними властивостями і мікробіологічними показниками Пробіфід та Лактокас відповідають наступним вимогам: колір – від жовтуватого до світло-коричневого; масова частка вологи – не більше 6 %; кількість життєздатних бактерій не менше 1–2 (Пробіфід) та 4–5 млрд/г (Лактокас); стерильність препаратів – не більше 0,005 % сторонніх мікроорганізмів; нешкідливість – (доза) на одну мишу 10 мг; специфічна активність препаратів до тест-культур: 8–28 мм (Пробіфід) та 10–32 мм (Лактокас) зон затримки росту. Одержані препарати Лактокас та Пробіфід у разі тестування в умовах *in vitro* показали високу антагоністичну активність до тест-культур патогенів *Staphylococcus aureus* 209-P, *Escherichia coli* 5921, *Klebsiella pneumonia* B-920, *Pseudomonas aeruginosa* B-920, *Candida albicans* Y-1918, *Enterococcus faecalis* B-915 (ТУ У 2014).

Пробіфід повинен відповідати вимогам цих ТУ і виготовлятися за технологічним регламентом, затвердженим у встановленому порядку з дотриманням санітарних норм і правил, затверджених центральними органами виконавчої влади у сфері охорони здоров'я України.

Основні показники та характеристики кормових добавок.

Корисні властивості штамів зумовлені здатністю до синтезу молочної кислоти, перекису водню та антибіотикоподібних речовин,

структурою пептидоглікану клітинної стінки. Штами мають високу адгезивність до епітеліоцитів, а також *in vitro* пригнічує ріст музейних та клінічних штамів стафілококів, стрептококів, кандид, псевдомонад, кишкової палички тощо. Мають ефективну антистафілококову дію *in vivo* за експериментальної стафілококової інфекції.

За органолептичними, фізико-хімічними та біологічними властивостями і мікробіологічними показниками пробіотичні добавки повинні відповідати вимогам, зазначеним у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Органолептичні, фізико-хімічні та біологічні показники пробіотичних добавок Пробіфід та Лактокас

| Показник | Характеристика і норми препарату Пробіфід | Характеристика і норми препарату Лактокас |
|--|--|--|
| Зовнішній вигляд | пориста суха маса | пориста суха маса |
| Колір | від жовтуватого до світло-коричневого | світло-коричневий |
| Масова частка вологи, %, не більше | 6 | 6–7 |
| Кількість життєздатних бактерій, млрд/г, не менше | 1–2 | 4–5 |
| Стерильність препарату, % сторонніх мікроорганізмів, не більше | 0,005 | 0,005 |
| Нешкідливість на одну мишу, мг | 10 | 10 |
| Специфічна активність препарату до тест-культур, мм зон затримки росту | 8–28 | 10–32 |

Методи контролювання кормових добавок.

З метою виявлення в кормових добавках живих типових мікробних клітин штаму *B. animalis* VKB та відсутності в препараті будь-яких інших мікроорганізмів, проводять контролювання.

Підготовка та проведення контролю: розплавлене середовище МРСА або м'ясо-пептонний агар, рН 7,0–7,2, розливають у чашки Петрі. Після застигання чашки з середовищем витримують при 37 °С протягом 1-2 діб. Чашки, в яких поживне середовище проросло, використанню не підлягають.

Вміст ампули (флакону) в умовах дотримання стерильності доводять до 10 см³ розчином натрію хлориду ізотонічного, одержуючи таким чином розведення 1:10 (1:10²). Далі готують послідовні десятикратні розведення 1:10³; 1:10⁴; 1:10⁵; 1:10⁶; 1:10⁷; 1:10⁸; 1:10⁹. З двох останніх розведень (1:10⁸ та 1:10⁹) проводять висів 0,1 см³ суспензії клітин на МРСА у чашках Петрі (по 2 чашки на розведення). Чашки з посівами ставлять на 18–24 год у термостат при температурі 37 °С. Через 18–24 год підраховують посіви та число колоній. Штам *B. animalis* VKB на МРСА утворюють гладенькі, випуклі колонії, молочно-білого коліру, діаметром 1-2 мм. Штам знімаються з агару за допомогою бактеріологічної петлі. При мікроскопії мазків з 10–12 колоній молоді культури, пофарбованих по Граму, в препараті повинні виявлятися тільки грампозитивні паличковидної форми бактерії розміром 1,8x0,8 мкм, розташовані окремо чи у вигляді короткого ланцюжка. При мікроскопії культур, що виростили на МРС в препаратах "роздавлена" чи "висяча" крапля мікробні клітини повинні бути нерухливими.

При проведенні контролю даним методом одночасно визначається також кількість сторонніх мікроорганізмів на 1000 клітин культур, що складають основу препарату, тобто показники його стерильності.

Метод дослідження специфічної активності.

З метою дослідження специфічної активності проводиться перевірка антагоністичних властивостей асоціації мікробних культур, що входять до складу препарату, по відношенню до ряду тест-мікроорганізмів. Для цього розкривається ампула (флакон) з препаратом, вміст розчиняють у стерильній водопровідній воді, ізотонічному розчині хлориду натрію і за допомогою бактеріологічної петлі проводять посів штрихом по діаметру чашки Петрі з агаризованим середовищем МРС. Чашку ставлять у термостат на 72 год при температурі 37 °С. Далі перпендикулярно до лінії асоціації культур, що вирости, наносять штрихом посівний матеріал тест-мікроорганізмів (суспензію 500 мільйонів клітин тест-мікроорганізмів в 1 см³ фізіологічного розчину). Чашку з посівами ставлять у термостат на 18–24 год при 37 °С, після чого підраховують зони пригнічення росту тест-мікроорганізмів.

Результати аналізу специфічної активності добавок Пробіфід та Лактокас наведено у табл 3.2 та табл 3.3.

Таблиця 3.2

Антагоністична активність пробіотичної добавки Пробіфід до тест-культур патогенних та умовно-патогенних бактерій

| Тест-культура | Зона пригнічення росту, мм |
|-------------------------------------|----------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> 209-P | 17 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> spp. | 39±3 |
| <i>Escherichia coli</i> 5921 | 8±3 |
| <i>Klebsiella pneumonia</i> B-920 | 21±4 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> B-920 | 19±4 |
| <i>Candida albicans</i> Y-1918 | 7±3 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> B-915 | 6±2 |

У разі тестування в умовах *in vitro* добавки показали антагоністичну активність до тест-культур патогенів *Staphylococcus aureus* 209-P, *Escherichia coli* 5921, *Klebsiella pneumonia* B-920, *Pseudomonas aeruginosa* B-920, *Candida albicans* Y-1918, *Enterococcus faecalis* B-915.

Дослідженнями антагоністичної активності кормових пробіотичних добавок встановлено, що вони в Лактокас і Пробіфід мали високу антагоністичну активність щодо штаму – *S. Staphylococcus aureus spp.*; помірну – стосовно *Staphylococcus aureus* 209-P, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* низьку – відносно *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* 5921, *Candida albicans* Y-1918.

Таблиця 3.3

Показники антагоністичної активності пробіотичної добавки Лактокас до тест-культур патогенних та умовно-патогенних бактерій

| Тест-культура | Зона пригнічення росту, мм |
|------------------------------------|----------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> 209-P | 16±2 |
| <i>Staphylococcus aureus spp.</i> | 42±4 |
| <i>Escherichia coli</i> 5921 | 9,5±2 |
| <i>Klebsiella pneumonia</i> | 19±3 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 16±2 |
| <i>Candida albicans</i> Y-1918 | 10±3 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 8±2 |

3.5. Вплив пробіотичних препаратів на морфобіохімічні показники та продуктивність курчат-бройлерів

Для оцінювання впливу на організм курчат-бройлерів кормових пробіотичних добавок проведено аналіз морфологічних та біохімічних показників крові (табл. 3.4).

У ході визначення вмісту гемоглобіну встановлено, що у птиці 2, 3 та 4 дослідних груп на 20 добу досліду рівень гемоглобіну був вищим на 3,2, 5,2 та 8,4 %, ніж у бройлерів контрольної групи.

Таблиця 3.4

Морфологічні та біохімічні показники курчат-бройлерів, ($M \pm m$; $n = 5$)

| Показники | 1 контрольна | 2 дослідна | 3 дослідна | 4 дослідна |
|----------------------------|--------------|------------|------------|-------------|
| Еритроцити, Т/л | 3,11±0,19 | 3,23±0,21 | 3,28±0,17 | 3,35±0,14 |
| Гемоглобін, г/л | 108,6±3,2 | 112,1±2,5 | 114,3±4,2 | 117,7±3,8 |
| Лейкоцити, Г/л | 29,9±1,3 | 30,1±2,7 | 32,7±2,1 | 33,5±2,9 |
| Загальний білок, г/л | 35,16±1,04 | 37,19±1,82 | 36,21±3,02 | 41,24±1,16* |
| Сечова кислота, ммоль/л | 0,57±0,04 | 0,53±0,05 | 0,56±0,03 | 0,51±0,03 |
| Креатинін, мкмоль/л | 83,412±7,12 | 80,36±8,14 | 82,73±6,12 | 79,52±5,11 |
| АсАТ, ммоль/год×л | 1,82±0,18 | 1,79±0,15 | 1,75±0,25 | 1,73±0,22 |
| АлАТ, ммоль/год×л | 0,94±0,06 | 0,82±0,06 | 0,86±0,11 | 0,85±0,09 |

Кількість еритроцитів у крові курчат-бройлерів дослідних груп була вищою від показника контрольної групи, але різниці, порівняно з контрольною групою, на цей період проведення досліджень не виявлено. Вміст лейкоцитів в усіх групах знаходиться в межах фізіологічної норми, однак, слід відмітити, що спостерігається тенденція до збільшення вмісту лейкоцитів у крові бройлерів дослідних груп порівняно з контролем. Встановлено, що вміст загального білка у птиці 1-ї (контрольної) групи

становить $35,16 \pm 1,04$ г/л, тоді як в дослідних групах спостерігається тенденція до його підвищення, а у 4-й групі даний показник вірогідно переважав контроль на 17,3% .

За використання добавок пробіотиків вміст сечової кислоти та креатиніну мав тенденцію до зменшення, що свідчить про оптимізацію виведення кінцевих продуктів обміну нуклеїнових кислот нирками.

Функціональний стан печінки вивчали за активністю індикаторних ферментів (АсАТ та АлАТ), яка у дослідних групах вірогідно не змінювалася порівняно з показниками групи контролю.

У ході дослідження курчат-бройлерів, яким до основного раціону додавали пробіотичні добавки Лактокас, Пробіфід і їх комплекс, мали перевагу в живій масі порівняно з контролем (табл. 3.5). Збільшення процесів інтенсивності росту зберігається до кінця дослідження.

Таблиця 3.5

Динамика живої маси курчат-бройлерів, г

| Вік, днів | 1 контрольна | 2 дослідна | 3 дослідна | 4 дослідна |
|-----------|--------------------|----------------------|--------------------|-------------------------|
| 1 | $46,5 \pm 0,61$ | $46,4 \pm 0,82$ | $46,2 \pm 0,58$ | $46,3 \pm 0,64$ |
| 7 | $149,5 \pm 1,12$ | $156,8 \pm 1,34$ | $153,9 \pm 1,78$ | $157,3 \pm 1,53$ |
| 14 | $396,2 \pm 15,31$ | $412,7 \pm 14,31$ | $409,4 \pm 12,31$ | $416,8 \pm 15,67$ |
| 21 | $768,8 \pm 18,11$ | $796,5 \pm 20,24$ | $790,3 \pm 19,24$ | $808,7 \pm 17,24$ |
| 28 | $1276,2 \pm 20,14$ | $1322,2 \pm 20,98$ | $1311,9 \pm 21,32$ | $1342,6 \pm 21,35^*$ |
| 35 | $1837,8 \pm 24,31$ | $1903,9 \pm 26,12^*$ | $1889,2 \pm 26,41$ | $1933,3 \pm 23,17^*$ |
| 42 | $2389,1 \pm 33,14$ | $2475,1 \pm 34,19^*$ | $2455,9 \pm 31,52$ | $2513,3 \pm 32,41^{**}$ |

Примітка: різниця достовірна *– $p < 0,05$; **– $p < 0,01$.

Наприкінці експерименту птиці, яким згодовували препарат Лактокас (2 гр.), достовірно переважали в масі на 3,6 – препарат Пробіфід

(3 гр) – на 2,8, у 4 групі (їх комплекс) на 5,2 % ($p < 0,01$), порівняно з бройлерами того ж віку в контрольній групі.

Збереженість поголів'я бройлерів за час експерименту становила від 96,0 до 99,0 %. Збереженість птиці в 4 дослідній групі, де отримані найбільш високі показники продуктивності, склала 99,0 %.

Середньодобовий приріст у всіх дослідних групах був вищим, ніж у контролі та складав 57,4–58,7 г проти 55,8 г (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Зоотехнічні показники вирощування курчат-бройлерів за 42 дні,
($M \pm m$; $n = 100$)**

| Показники | 1 контрольна | 2 дослідна | 3 дослідна | 4 дослідна |
|---|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Жива маса добового курчати, г | 46,5±0,61 | 46,4±0,82 | 46,5±0,58 | 46,3±0,64 |
| Жива маса 1 гол., г | 2389,1± 33,14 | 2475,1± 34,19 | 2455,9± 31,52 | 2513,3± 32,41 |
| Середньодобовий приріст, г | 55,8 | 57,8 | 57,4 | 58,7 |
| Витрати корму на 1 кг приросту маси, кг | 2,04 | 1,98 | 1,96 | 1,91 |
| Збереження, % | 96,0 | 98,0 | 97,0 | 99,0 |

У дослідженнях виявлено, що згодовування курчатам-бройлерам пробіотичних добавок Лактокас та Пробіфід сприяє не лише зростанню їх продуктивності, а й зниженню витрат корму на 1 кг приросту. Так, у курчат бройлерів 2 та 3 груп витрати корму на кг живої маси були, відповідно, на 2,9 та 3,9 % нижчими порівняно з контрольною групою. Найнижчими вони були у курчат-бройлерів 4 групи, які витрачали на 1 кг приросту на 6,4 % менше, ніж аналоги контрольної групи.

Отже, згодовування курчатам-бройлерам комбікорму з пробіотичними добавками Лактокас та Пробіфід сприяло збільшенню їх

живої маси на 5,2 %, середньодобових приростів – на 2,9 г, зниженню витрат кормів на 1 кг приросту живої маси – на 6,4 %.

Отримані нами експериментальні дані є підставою для використання комплексу пробіотиків з метою підвищення продуктивності у процесі виробництва м'яса бройлерів.

3.6. Вплив комплексу пробіотичних добавок на біохімічні, імунологічні та антиоксидантні показники курчат-бройлерів

Показники білкового обміну крові бройлерів у період проведення дослідів визначалися в межах фізіологічних норм (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Показники білкового обміну крові бройлерів за додавання пробіотиків Лактокас та Пробіфід ($M \pm m$, $n=5$)

| Показник | Контрольна група | Дослідна група |
|-------------------------|------------------|----------------|
| Загальний білок, г/л | 32,21±2,11 | 39,14±1,36* |
| Альбуміни, % | 41,23±4,42 | 42,12±3,50 |
| Сечова кислота, ммоль/л | 0,54±0,02 | 0,51±0,02 |
| Креатинін, мкмоль/л | 81,52±6,54 | 78,23±8,28 |
| АсАТ, ммоль/год×л | 1,71±0,12 | 1,62±0,09 |
| АлАТ, ммоль/год×л | 0,83±0,04 | 0,75±0,03 |

Примітка: тут і далі * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи.

Уміст загального білка в крові бройлерів дослідної групи був вищим порівняно з концентрацією у крові курчат контрольної групи ($p < 0,05$); вміст альбумінів вірогідно не відрізнявся від показників контрольної групи. У курчат-бройлерів дослідної групи спостерігали тенденцію до зниження активності маркерних ензимів (АлАТ, АсАТ), зменшення вмісту сечової кислоти й креатиніну та підвищення вмісту кальцію.

У ході аналізу ліпідного спектра крові встановлено (табл. 3.8) зниження вмісту триацилгліцеролів (ТАГ) (на 19,0 %, $p < 0,05$) і холестеролу (ХС) (на 17,9 %; $p < 0,05$) у тварин дослідної групи, що узгоджується з дослідженнями, в яких виявлено зниження вмісту ТАГ та ХС у крові бройлерів за введення пробіотиків [188]. У дослідях *in vitro* встановлено, що лактобактерії знижують вихід холестеролу з клітин печінки за рахунок пригнічення активності 3-гідрокси-3-метилглютарил-коензим А (ГМГ-КоА) редуктази, яка відіграє ключову роль у синтезі цього стерину [12, 75].

Таблиця 3.8

Біохімічні показники крові курчат-бройлерів за додавання пробіотиків Лактокас та Пробіфід ($M \pm m$, $n=5$)

| Показник | Контрольна група | Дослідна група |
|--------------------------|-------------------|--------------------|
| Загальні ліпіди, г/л | 8,76 \pm 1,39 | 6,57 \pm 1,69 |
| Триацилгліцерол, ммоль/л | 1,84 \pm 0,09 | 1,49 \pm 0,10* |
| Холестерол, ммоль/л | 6,12 \pm 0,25 | 5,02 \pm 0,24* |
| Загальний Са, ммоль/л | 2,62 \pm 0,26 | 2,92 \pm 0,17 |
| Фосфор, ммоль/л | 1,68 \pm 0,20 | 1,84 \pm 0,23 |
| -SH групи, мкмоль/л | 121,32 \pm 3,16 | 136,22 \pm 3,32* |
| -S-S- групи, мкмоль/л | 78,54 \pm 3,21 | 71,23 \pm 4,23 |
| -SH/ -S-S- | 1,52 \pm 0,13 | 1,81 \pm 0,05 |

Пропіонат, який утворюється в товстому кишечнику за анаеробної ферментації вуглеводів бактеріями, здатний знижувати вміст холестеролу в крові за рахунок пригнічення його синтезу гепатоцитами. Отже, використовуючи різні штами пробіотиків, змінюючи баланс ацетату, пропіонату та інших летких кислот в організмі господаря, можна регулювати кількість синтезованого клітинами холестеролу [75, 147].

Тіол-дисульфідна системи є важливим компонентом неензимного ланцюга антиоксидантного захисту та редокс-системи організму [85, 128].

Дослідженнями вмісту відновлених та окиснених тіолових груп (HS-груп та -S-S-груп) у крові бройлерів, які отримували препарати лакто- і біфідобактерій, встановлено збільшення ($p < 0,05$) кількості сульфогідрильних груп (HS-), тенденцію до зменшення кількості дисульфідних груп (-S-S-) та підвищення тіол-дисульфідного співвідношення (HS-/-S-S-), що свідчить про відновлення рівноваги окисно-відновної системи глутатіону, яка слугує модулюючим фактором антипероксидантного захисту та реалізується через взаємозв'язок із іншими метаболічними шляхами біохімічної детоксикації [148].

Одним із основних механізмів неспецифічної резистентності організму є клітинна ланка. Встановлені зміни показників неспецифічної резистентності курчат-бройлерів під час застосування добавок Лактокас та Пробіфід.

Як видно з наведених даних відбувається зростання показників неспецифічної резистентності організму курчат-бройлерів у разі застосування пробіотичних добавок. Так, на 10, 20 та 42 доби досліду застосування зросла фагоцитарна активність нейтрофілів, відповідно, на 8,6, 13,4 ($p < 0,05$) та 17,1 % ($p < 0,01$), а фагоцитарний індекс збільшується на 11,8 %, 15,5, та 28,1 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем (табл. 3.9). Результати вказують на активацію неспецифічних факторів захисту організму птиці та підвищення поглинальної здатності нейтрофілів під час застосування пробіотичних добавок.

Таблиця 3.9

Імунологічні показники крові курчат-бройлерів під час застосування пробіотичних добавок Лактокас та Пробіфід ($M \pm m$, $n=6$)

| Показник | Фагоцитарна активність, % | | Фагоцитарний індекс | |
|----------|---------------------------|------------|---------------------|----------|
| | Контроль | Дослід | Контроль | Дослід |
| 10 доба | 72,2±3,5 | 78,4±2,2 | 5,1±0,4 | 5,7±0,3 |
| 20 доба | 70,1±2,2 | 79,5±2,4* | 5,8±0,3 | 6,8±0,5 |
| 42 доба | 71,2±2,1 | 83,4±2,2** | 6,2±0,3 | 7,3±0,4* |

Результати аналізу динаміки НСТ-тесту наведені в таблиці 3.10. Результати свідчать про вірогідне збільшення показників спонтанного ($p < 0,05$) та стимульованого ($p < 0,01$) НСТ-тесту нейтрофільних гранулоцитів у курчат-бройлерів дослідної групи на тлі використання пробіотичних добавок на 20 добу досліду. Також спостерігалася тенденція до підвищення показників киснезалежного метаболізму клітин на 10- та 42- добу досліду.

Таблиця 3.10

Динаміка показників НСТ –теста крові курчат-бройлерів при застосуванні пробіотичних добавок Лактокас та Пробіфід ($M \pm m$, $n=6$)

| | НСТ-тест спонтанний | | НСТ-тест стимульований | |
|---------|---------------------|------------|------------------------|-------------|
| | Контроль | Дослід | Контроль | Дослід |
| 10 доба | 4,1±0,15 | 4,67±0,27 | 32,12±0,79 | 37,1±2,63 |
| 20 доба | 5,8±1,06 | 6,61±0,35* | 40,1±2,09 | 49,3±1,54** |
| 42 доба | 3,8±1,28 | 5,02±0,29 | 39,3±2,75 | 46,0±3,81 |

Це підтверджує здатність даних лейкоцитів відповідати «респіраторним вибухом» на стимуляцію, свідчить про підвищення адаптаційних резервів оксидазних ферментних систем нейтрофілів та збереження киснезалежного метаболізму даних клітин на високому рівні.

Отже, встановлено, що пробіотичні добавки сприяють підвищенню функціонально-метаболічної активності клітин та позитивно впливають на резистентність організму птиці.

3.7. Склад мікрофлори кишечника курей-бройлерів за застосування поліфункціональних пробіотиків

Здоров'я сільськогосподарської птиці залежить від балансу між нормальною і потенційно патогенною мікрофлорою кишечника. Будь-які зміни в цій рівновазі супроводжуються функціональними порушеннями,

які, у свою чергу, призводять до зниження продуктивності. Використання пробіотиків дає змогу уникнути дисбалансу кишечника та загибелі молодняку.

Одержання групи новітніх біотехнологічних препаратів – імунобіотиків – на основі попередньо відібраних і охарактеризованих представників нормальної мікрофлори птиці, зокрема штамів лакто- та біфідобактерій, є важливою проблемою сучасної біотехнології, адже сфери застосування цих пробіотичних препаратів значно розширюються, і пробіотичну терапію дедалі частіше ставлять на противагу антимікробній [2, 7]. Тому розробка сучасних пробіотичних препаратів та їх застосування для профілактики й лікування захворювань сільськогосподарських тварин і птиці є актуальним завданням сьогодення [1].

Дисфункція імунної системи, яка виникає внаслідок зміни екології, широкого застосування новітніх хімічних препаратів різної природи, порушення нормальної мікрофлори є однією з найважливіших причин підвищення агресивності умовно-патогенних коменсальних мікроорганізмів з подальшим розвитком інфекційно-запальних хвороб [4]. Результати експериментальних досліджень, одержані в останні роки, показали, що під впливом пробіотичних препаратів спостерігали відновлення нормофлори травного каналу, імунного статусу, зростання фагоцитарної активності моноцитів, нейтрофілів та макрофагів [5, 9].

Для лікування і профілактики дисбактеріозу в птахівництві дедалі більшої популярності набуває застосування пробіотиків на основі нормальної мікрофлори птахів з використанням перспективних штамів.

Метою роботи був біотехнологічний аналіз даних щодо складу і функцій мікрофлори різних біотопів сільськогосподарської птиці. Одним із біотехнологічних методів для вивчення бактеріальної мікрофлори птахів є метод прижиттєвого бактеріологічного контролю – дослідження групових проб мікрофлори кишечника птиці. Під час аналізу мікрофлори кишечника птиці ідентифікують лише 60–70 % мікроорганізмів. Показано, що

нормальна мікрофлора птиці виконує захисну функцію, оскільки колонізується на приєпітеліальній кишковій зоні, активно конкурує за джерела живлення, має ширший набір ензимів, а також синтезує низку екзометаболітів, що чинять антагоністичну дію на патогенні і умовно патогенні транзиторні мікроорганізми.

Штами, які використовують у біотехнології пробіотиків, характеризуються унікальним поєднанням високої антагоністичної дії на патогенні мікроорганізми, високої імуномодулювальної, метаболічної активності, нешкідливості для макроорганізму і аутомікрофлори, високої стійкості до несприятливих умов зовнішнього середовища [8]. Сучасні вимоги Європейського регуляторного законодавства в галузі пробіотиків передбачають необхідність проведення всебічних досліджень біологічної активності як окремих пробіотичних культур, так і їх поєднань у процесі створення пробіотичних препаратів на основі монокультур лакто- та біфідобактерій чи їх різних комбінацій [2].

За дослідженнями вмісту мікроорганізмів у ШКТ курчат-бройлерів встановлені певні особливості (рис. 3.8).

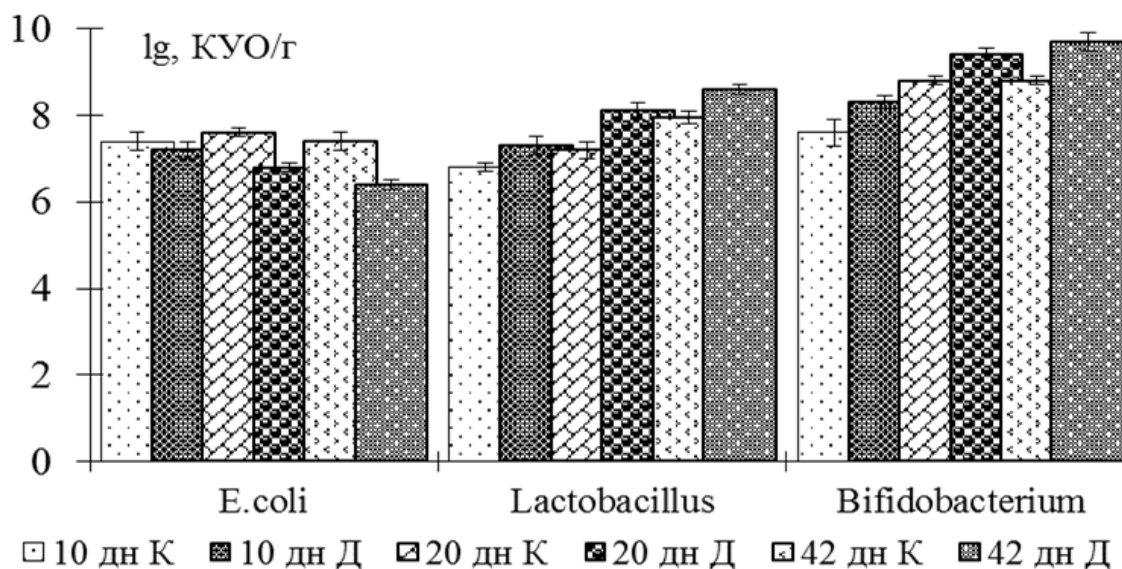


Рис. 3.8. Загальна кількість *E. coli*, *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* у 12-палій кишці курей у разі застосування пробіотиків.

На 10 добу застосування пробіотиків Лактокас та Пробіфід у 12-палій кишці курчат-бройлерів кількість *E. coli* не зазнавала вірогідних змін, а бактерій *Lactobacillus* виділяли на 5,9 та *Bifidobacterium* на 6,8 % більше. На 20 добу рівень заселення кишкової палички був нижчим на 10,2 %, а лакто- та біфідобактеріями – вірогідно підвищувався на 13,4 та 8,6 %. На 42 добу застосування пробіотиків у дослідній групі бройлерів кількість лакто- та біфідобактерій вірогідно зростала, відповідно, на 12,7 та 18,5 %. Щодо кишкової палички, то у дослідній групі бройлерів її кількість була на 17,5 % менша, ніж у контрольній групі.

На 10 добу досліду (рис. 3.9) кількість *E. coli* у сліпій кишці курчат-бройлерів зменшилась порівняно з контролем на 5,4 %, а вміст лакто- та біфідобактерій зріс ($p < 0,05$), відповідно, на 7,9 та 9,2 %. На 20 добу кількість кишкової палички зменшилася на 6,9 %, а рівень заселення лакто- та біфідобактеріями вірогідно підвищився на 13,4 та 8,6 % щодо контролю. На 42 добу кількість *E. coli* зменшилася на 7,9 % ($p < 0,01$), а кількість лакто- та біфідобактерій збільшилася на 21,9 та 13,1 %.

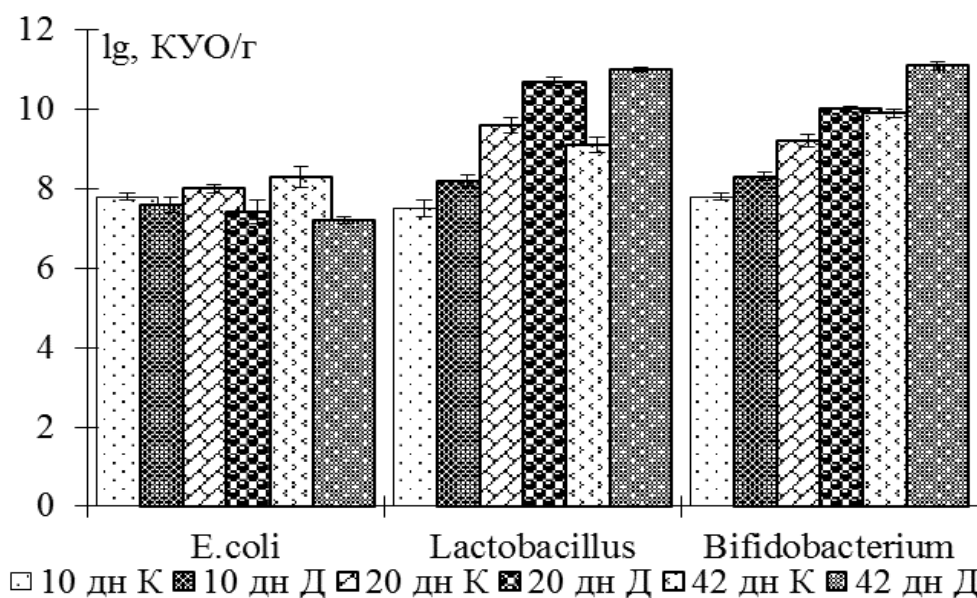


Рис. 3.9. Загальна кількість *E. coli* та *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* у сліпій кишці курей у разі застосування пробіотика.

Отже, у разі застосування пробіотиків Лактокас та Пробіфід загальна кількість лакто- і біфідобактерій стабільно зростала, а кількість кишкової

палички на початку досліджень вірогідно не змінювались, проте в подальшому – зменшувалася. За використання досліджуваних пробіотиків відбулася корекція вмісту мікрофлори кишечника курчат у бік збільшення кількості корисних анаеробних мікроорганізмів, зокрема біфідобактерій, які запобігають колонізації організму птиці патогенами та мають здатність формувати біоплівку на поверхні слизової кишечника. Це підвищує стійкість птиці до захворювань шлунково-кишкового тракту [29].

На 10 добу застосування комплексу пробіотиків Лактокас та Пробіфід у дослідній групі мікроорганізмів роду *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* виділяли з м'язового шлунка, 12-палій, сліпої та прямої кишок, відповідно, на 4,0; 5,4; 5,9; 6,8; 7,9; 6,4 та 9,9 % більше, ніж у контрольній групі. Щодо *E. coli*, то їх кількість у відповідних відділах кишечника зменшувалася, у порівнянні з контролем, відповідно, на 2,9; 5,1 та 7,3 %. Результати досліджень на 42 добу застосування пробіотика подані на рис. 3.10.

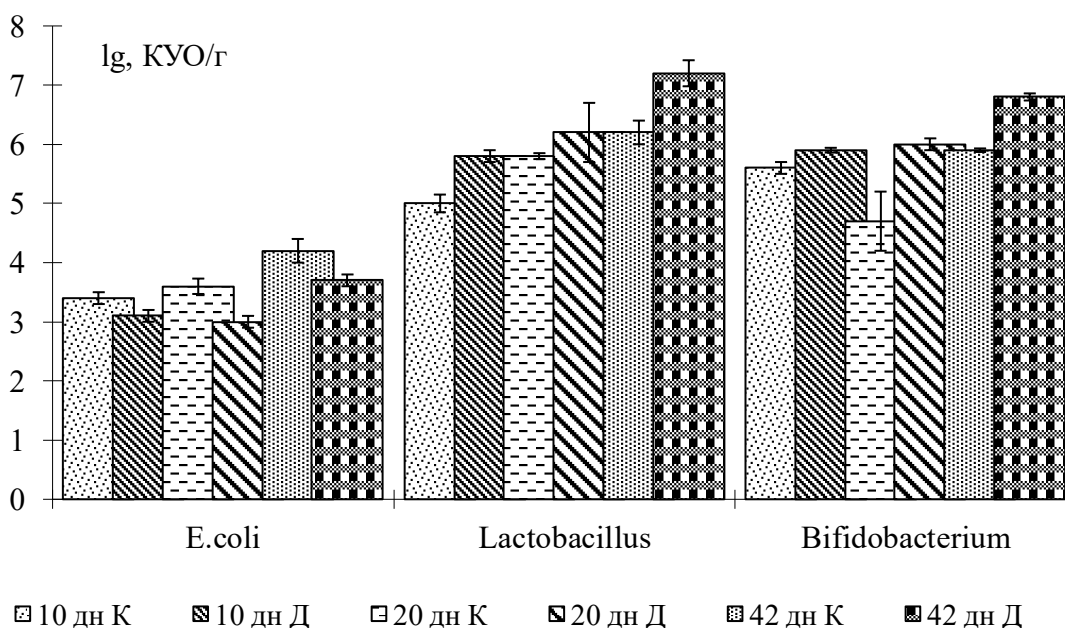


Рис. 3.10. Загальна кількість *E. coli* та *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* у вмістимому м'язового шлунку курей у разі застосування пробіотика.

На 42 добу застосування комплексу пробіотиків Лактокас та Пробіфід у дослідній групі мікроорганізмів роду *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* виділяли з м'язового шлунка, 12-палій, сліпої та прямої

кишок (рис. 3.11), відповідно, на 7,8; 7,5; 12,7; 18,5; 21,9; 13,1; 18,5 та 8,9 % більше, ніж у контрольній групі. Щодо *E. coli*, то в дослідній групі мікроорганізмів виділяли з м'язового шлунка, 12-палій, сліпої та прямої кишок, відповідно, на 11,9; 17,5; 7,9 та 17,5 % менше, ніж у контрольній групі. Досліджено, що у м'язовому шлунку кількість мікроорганізмів менша, ніж в інших відділах та складає 10^3 – 10^5 КУО/г через наявність в ньому шлункових соків, які пригнічують розмноження. Найбільше мікроорганізмів виявляли в кінцевих відділах тонких кишок, сліпій та прямій кишках (10^7 – 10^{11} КУО/г).

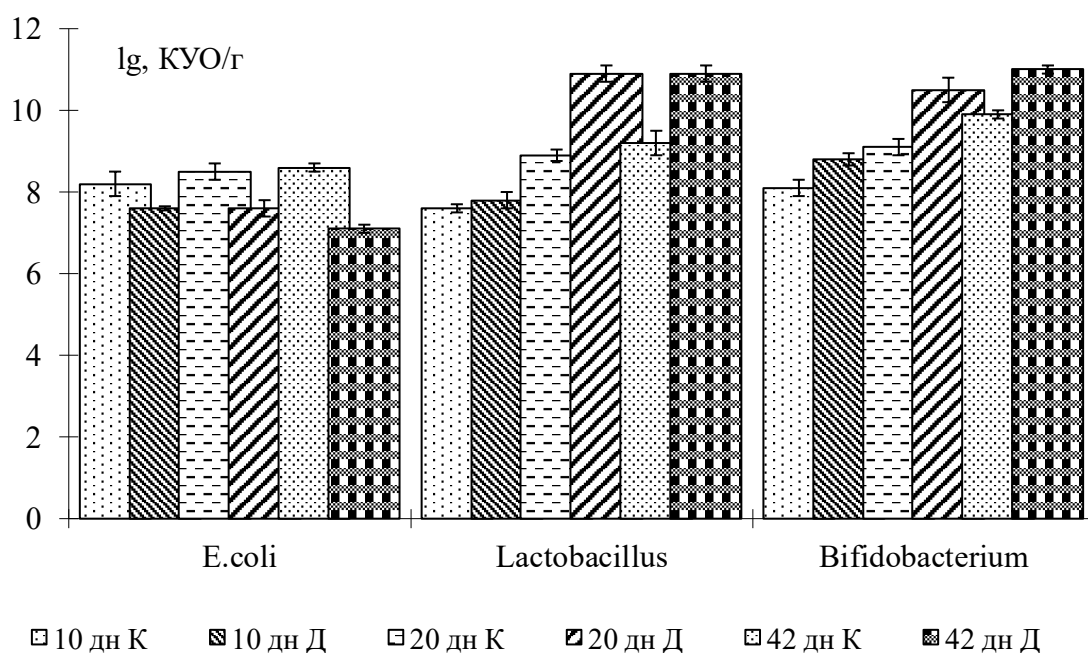


Рис. 3.11. Загальна кількість *E. coli* та *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* у вмістимому прямої кишки курей у разі застосування пробіотика ($M \pm m$, $n=5$).

Відомо, що близько 99 % від загальної кількості мікроорганізмів сліпої чи товстої кишок птахів різних видів становлять біфідо- та лактобактерії [29]. Факультативна мікрофлора кишечника здорової птиці представлена умовно-патогенними стафілококами, стрептококами, гемолізуючими кишковими паличками, протеєм та грибками. У різних відділах шлунково-кишкового тракту птахів кількість мікроорганізмів різна. Так, у залозистому та м'язовому шлунках їх менше (10^2 – 10^3 КУО/г)

у зв'язку з наявністю в ньому шлункових соків, які пригнічують розмноження. У дванадцятипалій кишці виявлено незначну кількість мікрофлори (10^3 КУО/г) через присутність жовчі, однак з неї виділяють кишкові палички, ентерококи і спорові бактерії. Тонкий кишечник заселений кишковими паличками, ентерококами, споровими та лактобактеріями. Загальна кількість мікроорганізмів у ньому становить 10^5 – 10^6 КУО/г. Найбільше мікроорганізмів у кінцевих відділах тонких кишок, сліпій та прямій кишках (10^7 – 10^9 КУО/г). За видовим складом – це представники тих самих родів, що й у тонкому кишечнику, однак у значно більшій кількості [11, 29].

Зміни видового складу мікроорганізмів та їх співвідношення відбуваються впродовж 42 діб після вилуплення [91]. Це відбувається в імунодепресивні періоди, які у постембріогенезі курчат-бройлерів припадають на: 3–5, 12–20 та 42–45 доби. Так, концентрація лакто- і біфідо-бактерій, кількість яких у кишечнику курчат найбільша, до 28 доби зменшується, і дуже важливо, щоб пробіотики компенсували ці зміни. Таким чином, встановлено, що за введення комплексу пробіотиків у імунодепресивні періоди не спостерігали домінування бактерій умовно-патогенних видів.

Отже, під час застосування досліджуваних препаратів встановили, що проходила корекція мікрофлори кишечнику птиці в бік збільшення корисних мікроорганізмів та зменшення умовно-патогенної мікрофлори. Доцільно використовувати препарати Лактокас та Пробіфід для нормалізації мікрофлори організму тварин, особливо за умов промислового ведення птахівництва. Це – екологічно чисті препарати, які є фізіологічними і безпечними для сільськогосподарської птиці.

3.8. Вплив нових функціональних пробіотичних добавок на продуктивність курчат-бройлерів

З результатів, наведених у таблиці 3.10, видно, що практично упродовж всього терміну вирощування курчата-бройлери дослідних груп перевершували аналогів з контрольної групи. У ході дослідження бройлери, яким до основного раціону додавали пробіотичні добавки Лактокас і Пробіфід, мали перевагу в живій масі порівняно з контролем. Інтенсивність росту збільшувалася до кінця дослідження.

Таблиця 3.11

Динаміка живої маси курчат-бройлерів (г, $M \pm m$)

| Вік, днів | 1 контрольна | 2 дослідна |
|-----------|---------------|------------------|
| 1 | 46,8±0,65 | 46,5±0,63 |
| 7 | 131,2±1,24 | 138,7±2,41 |
| 14 | 395,3±4,34 | 412,8±6,62 |
| 21 | 608,2±8,41 | 637,9±9,27 |
| 28 | 1046,7±14,18 | 1201,6±15,35*** |
| 35 | 1642,8±20,41 | 1821,3±28,17*** |
| 42 | 2239,72±57,90 | 2443,54±41,53*** |

Найвищу живу масу у віці 7, 14, 21, 28, 35 та 42 доби мали бройлери дослідної групи і за цим показником відповідно на 7,5, 17,3, 29,7, 159,4, 178,5 та 203,8 г переважав аналогів контрольної групи. Вказана різниця у курчат 28,-35- та 42-добового віку була вірогідною ($p < 0,001$).

У 42-денному віці курчата дослідної групи мали найбільшу живу масу й перевершували однолітків з контрольної групи на 203,8 г, або на 9,1%.

Наступним етапом досліджень було визначення показників продуктивності бройлерів (забійний вихід, конверсія корму) для контрольної та дослідних груп курчат. Результати експерименту наведені в таблиці 3.12. Аналізуючи дані таблиці, можна сказати, що згодовування

курчатам –бройлерам комбікорму з пробіотичними добавками суттєво впливає на показники забою птиці, збільшує її передзабійну живу масу на 203,9 г (на 9,1%), масу патраної тушки на 184,4, вихід патраної тушки – співвідношення маси патраної тушки (без пір'я, крові, кишечника, голови, ніг, маси корму в м'язовому шлунку, статевих органів, нирок і селезінки) до живої маси на 10,7% .

Це означає, що зростання живої маси курчат-бройлерів у дослідній групі підтверджується перевищенням по забійному виходу.

Таблиця 3.12

Показники продуктивності курчат-бройлерів, $M \pm m$

| Показник | 1 контрольна | 2 дослідна |
|--|---------------|------------------|
| Жива маса на 1 добу, г | 46,2±3,02 | 45,8±3,41 |
| Жива маса на 42 добу, г | 2239,72±57,90 | 2443,71±41,53*** |
| Маса тіла, % | 100 | 109,1 |
| Маса патраної тушки, г | 1729,06±22,69 | 1913,42±25,12 |
| Вихід патраної тушки, % | 77,2 | 78,3 |
| Конверсія корму, кг | 2,02 | 1,95 |
| Збереженість поголів'я за період відгодівлі, % | 95,0 | 98,0 |

Аналізуючи показники табл.3.12, встановлено, що нижчі витрати корму на одиницю продукції спостерігали у курчат-бройлерів дослідної групи, яким до складу раціону додавали кормові пробіотичні добавки, на 0,07 кг, або на 3,5% менше, порівняно з курчатами контрольної групи.

Збереженість поголів'я бройлерів за час експерименту становила від 95,0 до 98,0 %. Збереженість птиці в дослідній групі, де отримані найбільш високі показники продуктивності, склала 98,0 %.

Показником, що характеризує біологічну повноцінність м'яса є білково-якісний показник (БКП) – відношення незамінної амінокислоти триптофану до замінних амінокислот оксипроліну. БКП грудної та

стегнової груп м'язів бройлерів 4 дослідної групи мають кращі показники щодо контрольної та інших досліджуваних груп. Проведення дегустаційної оцінки показало, що смакові якості м'яса і бульйону з м'яса курчат-бройлерів, у раціон яких включені пробіотичні добавки, поліпшуються.

Отримані нами дані є підставою для використання комплексу пробіотиків з метою підвищення продуктивності у процесі виробництва м'яса бройлерів.

Отже, проведені дослідження з використання в годівлі курчат-бройлерів пробіотичних препаратів Лактокас і Пробіфід показали їх високу ефективність. Застосування пробіотиків у раціонах курчат-бройлерів підвищує збереження поголів'я, збільшує продуктивні показники курчат-бройлерів: приріст живої маси бройлерів відповідно на 2,8–5,2 %; вихід їстівних частин тушок – на 3,6 %; знижує витрати корму на приріст живої маси, підвищує рентабельність виробництва м'яса птиці.

Найбільш економічно ефективним варіантом застосування нової пробіотичної добавки є одночасне введення в комбікорми препаратів Лактокас і Пробіфід на весь період вирощування курчат.

З огляду на наведений матеріал, слід зазначити, що додавання кормової добавки приводить до вірогідного зростання живої маси бройлерів у віці 42 доби на 9,1 % ($p < 0,001$).

Виявлені певні зміни у масі внутрішніх органів курчат-бройлерів (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Маса внутрішніх органів курчат-бройлерів (г, $M \pm m$, $n=8$)

| Орган | Контроль | % | Дослід | % |
|-----------------|----------|------|----------|------|
| Печінка | 43,9±4,8 | 1,94 | 49,3±5,3 | 2,01 |
| Селезінка | 2,8±0,3 | 0,13 | 2,9±0,2 | 0,12 |
| Серце | 12,2±1,2 | 0,54 | 12,8±1,0 | 0,52 |
| М'язовий шлунок | 28,2±1,6 | 1,26 | 31,3±1,9 | 1,28 |

Дослідження маси внутрішніх органів показало, що споживання птицею пробіотичних добавок приводить до збільшення абсолютної маси печінки в дослідній групі, проте щодо передзабійної маси ці коливання є незначними порівняно з контрольною. Інші зміни залишилися в межах фізіологічних норм.

Згодовування пробіотичних кормових добавок курчатам-бройлерам по-різному вплинуло на хімічний склад грудних м'язів (табл. 3.14).

Встановлено, що вміст сухої речовини у грудних м'язах дослідної групи мав тенденцію до збільшення. Слід відмітити, що збільшення вмісту сухої речовини призвело до зменшення загальної вологи у м'ясі курчат дослідної групи на 0,82 %, жиру – на 0,8 % та зростання масової частки протеїну на 0,63.

Інші показники якості грудних м'язів, що досліджувались, не мали вірогідної різниці порівняно з контрольними аналогами.

Таблиця 3.14

Хімічний склад грудних м'язів курчат-бройлерів (% , $M \pm m$, $n=5$)

| Показник | Контрольна група | Дослідна група |
|--------------------|------------------|----------------|
| Загальна волога | 72,84±0,214 | 72,22±0,19 |
| Суха речовина | 27,22±0,21 | 27,85±0,38 |
| Зола | 1,1±0,06 | 1,21±0,17 |
| Органічна речовина | 26,05±0,94 | 26,61±0,82 |
| Протеїн | 21,23±0,24 | 22,37±0,41 |
| Жир | 1,52±0,13 | 1,50±0, 21 |
| pH | 5,74±0,08 | 5,64±0,05 |

Хімічний склад стегнових м'язів курчат-бройлерів дослідної групи за дії пробіотичних добавок також мав свої особливості (табл. 3.15).

Так, кількість сухої речовини у стегнових м'язах бройлерів дослідної групи за використання пробіотичної добавки практично не змінилась, а

вміст загальної вологи зменшився на 1,56 %. Водночас дослідження в м'язовій тканині жиру показали зменшення на 1,1 % порівняно з контрольною.

Таблиця 3.15

Хімічний склад стегових м'язів курчат-бройлерів (% , $M \pm m$, $n=5$)

| Показник | Контрольна група | Дослідна група |
|--------------------|------------------|----------------|
| Загальна волога | 73,80±2,34 | 72,65±1,94 |
| Суша речовина | 26,1±1,12 | 26,9±0,96 |
| Зола | 1,72±0,08 | 1,86±0,14 |
| Органічна речовина | 24,4±0,62 | 25,1±0,71 |
| Протеїн | 19,14±0,63 | 19,92±0,58 |
| Жир | 2,92±0,45 | 2,88±0,34 |
| pH | 6,14±0,09 | 6,23±0,07 |

Дослідженнями встановлено, що використання в годівлі курчат-бройлерів комбікормів з пробіотичними добавками зумовили зміни у кількості амінокислот триптофану та оксипроліну у м'ясі (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

Вміст триптофана та оксипроліна у м'язах курчат-бройлерів, мг/100 г, ($M \pm m$, $n=6$)

| показники | Біле м'ясо | | Червоне м'ясо | |
|------------|------------|-----------|---------------|-----------|
| | контроль | дослід | контроль | дослід |
| Триптофан | 262,4± 8,6 | 268,7±9,5 | 204,7±6,8 | 211,1±8,4 |
| Оксипролін | 40,9 ±2,1 | 38, 6±2,5 | 35,8±8,4 | 34,5±2,6 |
| T/O | 6,42 | 6,96 | 5,72 | 6,12 |

Так, у білому м'ясі птиці контрольної групи кількість триптофана та оксипроліна складала, відповідно, 262,4±8,6 та 40,9±2,1 мг/100 г, а в

дослідній групі $-268,7 \pm 9,5$ мг/100 г. Водночас, у червоному м'ясі бройлерів показники були на рівні $204,7 \pm 6,8$ та $35,8 \pm 8,4$ мг/100 г у контрольній групі, та $211,1 \pm 8,4$ і $34,5 \pm 2,6$ мг/100 г у дослідній групі. Аналізуючи дані співвідношення триптофана до оксипроліна у білому та червоному м'ясі бройлерів спостерігали збільшення віношення Т/О, відповідно на 8,4 та 7,0 %.

Отже, використання пробіотичних кормових добавок сприяло збільшенню співвідношення амінокислот триптофана до оксипроліна у білому та червоному м'язах курчат-бройлерів і тим самим підвищило біологічну цінність м'яса птиці.

Результати досліджень вмісту холестеролу у м'язах курчат-бройлерів дозволили встановити, що найвищий вміст холестеролу у грудному м'язі виявлено у самців та самок контрольної групи на рівні, відповідно, $228,7 \pm 6,3$ та $242,9 \pm 7,2$ мг %. Найнижчі показники встановлено у самців і самок дослідної групи – $223,2 \pm 5,7$ та $235,3 \pm 6,5$ мг % (табл. 3.17).

Таблиця 3.17

Вміст загального холестеролу у грудному м'язі курчат-бройлерів, мг % (на суху речовину) ($M \pm m$, $n=5$)

| Показник | | Вік бройлерів, доба | |
|----------|---|---------------------|-----------------|
| | | 20 | 42 |
| Контроль | ♂ | $262,1 \pm 5,4$ | $228,7 \pm 6,3$ |
| | ♀ | $288,6 \pm 6,9$ | $242,9 \pm 7,2$ |
| Дослід | ♂ | $253,7 \pm 8,1$ | $223,2 \pm 5,7$ |
| | ♀ | $277,6 \pm 7,3$ | $235,3 \pm 6,5$ |

Дослідженнями вмісту холестеролу у м'язі ніг курчат-бройлерів контрольної групи встановлено, що його рівень складав у самців та самок, відповідно, $342,7 \pm 6,2$ та $351,9 \pm 7,4$ мг %, а у курчат дослідної групи – $325,43 \pm 6,5$ та $326,7 \pm 8,2$ мг %, що на 5,04 та 7,16 % менше, ніж у контролі (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

Вміст загального холестеролу у м'язі ніг курчат-бройлерів, мг % (на суху речовину) ($M \pm m$, $n=5$)

| Показник | | Вік бройлерів, доба | |
|----------|---|---------------------|------------|
| | | 20 | 42 |
| Контроль | ♂ | 362,1±7,4 | 342,7±6,2 |
| | ♀ | 388,6±8,3 | 351,9±7,4 |
| Дослід | ♂ | 340,7±8,1 | 325,4±6,5 |
| | ♀ | 360,6±7,9 | 326,7±8,2* |

Відомо, що мікроорганізми, які знаходяться у травному тракті, можуть втручатися в холестериновий метаболізм в організмі також і шляхом впливу на ферментні системи клітин хазяїна, які синтезують ендогенний холестерин. Слід зазначити, що кишкові та інші бактерії здатні спричиняти розпад та трансформацію не лише холестерину, але й жовчних кислот, стероїдних гормонів [162]. Внаслідок взаємозв'язку всіх цих трьох груп стеринів можна очікувати, що зміна концентрації однієї з цих сполук індукуватиме утворення або, навпаки, пригнічення синтезу холестерину. Все це разом дає змогу розглядати мікрофлору хазяїна як важливий метаболічний та регуляторний орган, що разом з органами і клітинами хазяїна бере участь у підтриманні гомеостазу холестерину [162, 177, 186, 192, 207].

Серцеві захворювання є вбивцею номер один у розвинених країнах, і одним з факторів ризику, який часто робить хворобу смертоносною, є високий рівень холестеролу у продуктах харчування, тому використання кормових пробіотичних добавок, які знижують вміст холестеролу у продукції птахівництва, є дуже перспективним.

Однією з основних вимог до пробіотиків є їх нешкідливість для організму господаря. Досліди з визначення порівняльної біологічної

цінності м'яса бройлерів проводили з використанням інфузорії *Tetrachimena piriformis*.

Додавання комплексу пробіотиків призводить до підвищення рівня відносної біологічної цінності великого грудного м'яза на 12,9 % (табл. 3.19).

Таблиця 3.19

Відносна біологічна цінність (ВБЦ) великого грудного м'яза бройлерів за кількістю клітин *Tetrachimena piriformis* в 1 мл середовища, $M \pm m$, $n=3$

| | 1–контрольна | 2–дослідна |
|---|----------------|----------------|
| Кількість клітин в 1 мл середовища, $\times 10^4$ | 18,4 \pm 2,7 | 20,8 \pm 2,5 |
| ВБЦ % | 100,0 | 112,9 |

Оцінку вареного м'яса курчат-бройлерів проводили за п'ятибальною шкалою для кожного показника. Як видно із табл. 3.20, м'ясо бройлерів дослідної та контрольної груп за соковитістю, смаком та ніжністю не різнилося, в обох групах воно було соковите, мало приємний смак.

Таблиця 3.20

Органолептична оцінка м'яса бройлерів

| Показник | Контрольна група | Дослідна група |
|-----------------|------------------|----------------|
| Соковитість | 5,0 | 5,0 |
| Смак | 5,0 | 5,0 |
| Ніжність | 5,0 | 5,0 |
| Загальна оцінка | 15,0 | 15,0 |

Отже, за результатами досліджень встановлено, що включення кормових добавок до складу комбікорму для курчат-бройлерів позитивно

впливає на показники продуктивності, не справляє негативного впливу на якість одержаної продукції.

Узагальнюючи результати проведених досліджень, на основі отриманих біохімічних, мікробіологічних та імунологічних даних можна зробити висновок про активну дію пробіотиків Лактокас та Пробіфід на важливі ланки імунного та антиоксидантного захисту організму, що покращує показники ліпідного обміну, підвищує валовий приріст птиці, збереженість поголів'я, не справляє негативного впливу на якість одержаної продукції птахівництва.

3.9. Економічна ефективність використання пробіотичного комплексу у виробництві м'яса бройлерів

Апробацію отриманих результатів, які характеризують економічну ефективність використання кормових пробіотичних добавок Лактокас та Пробіфід проводили в умовах господарства ТОВ "Агрокомплекс" Київської області. Результати дослідження економічної ефективності використання пробіотиків наведено у таблиці 3.21.

За результатами виробничої апробації встановлено, що додавання кормової пробіотичної добавки у складі комбікорму дозволяє підвищити валовий приріст птиці на 10,9 %, збереженість поголів'я – на 3,7 %; знижує собівартість продукції, що сприяло одержанню додаткової продукції та зростанню виручки від реалізації на 13,0 %.

У результаті збільшення валового виробництва продукції витрати комбікормів із розрахунку на 1 кг приросту живої маси у дослідній групі були на 5,9 % меншими порівняно з контролем.

За проведеними розрахунками собівартість 1 кг приросту маси бройлерів у новому варіанті була на 4,4 % нижчою порівняно з показником у базовому варіанті.

Таблиця 3.21

Економічна ефективність виробництва м'яса курчат-бройлерів за використання кормових пробіотичних добавок Лактокас та Пробіфід

| Показник | Базовий варіант | Новий варіант |
|--|-----------------|---------------|
| Посаджено курчат-бройлерів на вирощування, голів | 350 | 350 |
| Кількість курчат зданих на забій, голів | 332 | 345 |
| Збереженість поголів'я за період відгодівлі, % | 94,9 | 98,6 |
| Валовий приріст, кг | 736,3 | 818,0 |
| Витрата комбікорму на 1 кг приросту, кг | 2,05 | 1,93 |
| Витрати корму за період вирощування, т | 1,51 | 1,58 |
| Вартість 1 т комбікорму, грн | 4500 | 4500 |
| Загальна вартість кормів, грн | 6795 | 7110 |
| Вартість добового молодняка, грн | 1400 | 1400 |
| Додаткові витрати, грн | 1973 | 2480 |
| Загальні витрати, грн | 10168 | 11070 |
| Реалізовано м'яса, кг | 552 | 623,9 |
| Реалізаційна ціна 1 кг м'яса, грн. | 30 | 30 |
| Виручка від реалізації м'яса, грн. | 16560 | 18717 |
| Прибуток, грн | 6392 | 7927 |
| Собівартість 1 кг приросту, грн. | 13,8 | 13,19 |
| Рівень рентабельності, % | 62,8 | 69,0 |

Таким чином, уведення до складу комбікорму курчат-бройлерів кормових пробіотичних добавок Лактокас та Пробіфід в кількості 0,4 та 0,5 г/кг спряє підвищенню рівня рентабельності вирощування курчат-бройлерів на 6,2 %.

4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

На сучасному етапі розвитку птахівництва однією з проблем цієї галузі є підвищення життєздатності і стійкості до захворювань поголів'я птиці з метою збереження потенціалу продуктивності [3, 5, 7, 27, 101].

Порушення імунологічних реакцій, зумовлені нестачею чи надлишком компонентів раціону, включаючи білки, ліпіди, вітаміни, макро- і мікроелементи, у птахівництві зустрічаються набагато частіше, ніж імунодефіцити. Крім цього, у процесі вирощування птиці в промислових умовах застосовують широкий спектр антимікробних препаратів, здатних справляти негативний вплив на її імунну систему [3, 5, 7].

Оскільки ентеральний шлях інфікування є чи не основним, відповідно, і слизова оболонка ШКТ є потужним периферичним органом імунного захисту. Першим захисним бар'єром тут виступає мікросередовище із травних ферментів та присутність фізіологічного мікробіоценозу [102]. Другу лінію оборони становить слизова оболонка ШКТ з властивою їй великою кількістю лімфоїдної тканини, за що і отримала свою назву імунна система шлунка і кишок – GALT (gut associated lymphoid tissue).

Ефективність застосування пробіотиків у тваринництві та птахівництві головним чином залежить від мікроорганізмів, які входять до складу пробіотика та комплексу пробіотиків. За відсутності систематизованого підходу з виділення та підбору пробіотичних штамів з визначенням біологічних властивостей та конкретної рекомендації щодо застосування, важливою є розробка методологічних підходів щодо оцінювання біологічних властивостей мікроорганізмів, які будуть використані для конструюванні пробіотиків [81].

Встановлення спектра антагоністичних властивостей досліджуваних штамів до умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів є надзвичайно важливим під час відбору пробіотичних штамів.

Згідно з літературними даними розроблено схему послідовних етапів щодо оцінювання пробіотичних штамів. Відповідно до схеми відбирали найефективніші штами мікроорганізмів, придатних для одержання пробіотичних кормових добавок.

Розробка пробіотичних препаратів на основі молочнокислих бактерій для використання у ветеринарній медицині, за визначенням деяких авторів [64], має певні труднощі, пов'язані з недостатнім рівнем розвитку біотехнології для потреб агропромислового комплексу, відсутністю бази для наукових досліджень у дрібнотоварних виробників та доступністю штамів з промислових колекцій мікроорганізмів і створення на їх основі препаратів для ветеринарії, що не завжди є прийнятним.

Пробіотики на основі молочнокислих бактерій роду *Lactobacillus* знайшли широке використання як у гуманній, так і у ветеринарній медицині. Аналіз продукції провідних світових виробників пробіотиків дозволив визначити бактерії, які найбільш часто використовують (у порядку зменшення): *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactococcus lactis*.

Загально визнаними тестами для відбору штамів пробіотичних препаратів для тварин є: джерело виділення (від тварин); високий колонізаційний потенціал (адгезивність); резистентність до низьких значень рН, жовчних кислот; кислотоутворення, продукція антимікробних субстанцій (антагоністична активність, продукція перекису, лізоциму); стабільність характеристик у клінічному і технологічному планах; висока швидкість розмноження [27].

Для того щоб пробіотик був ефективним, бактеріям, які входять до його складу, має бути притаманний певний спектр біологічної активності. Насамперед, вони мають бути адаптовані до умов мікробіоценозу, виявляти антагоністичну дію щодо широкого спектра патогенних та

умовно-патогенних мікроорганізмів, мати антитоксичні, антиоксидантні, антимуtagenні властивості, а також здатність балансувати імунну відповідь організму за різних форм імунодефіциту [191].

Однак, слід зазначити, що як конкретні механізми імуномодулювальної дії пробіотиків, так і їх кінцевий вплив на організм можуть бути різноманітними і залежать від конкретних ліній пробіотичних бактерій та стану імунітету тварин [3, 11, 42], а тому потребують подальшого вивчення.

У зв'язку з цим для виявлення оптимальних пробіотичних штамів цільового призначення доцільним є проведення комплексних досліджень їх біологічної дії.

Тому першим етапом наших досліджень було проведення скринінгу потенційно пробіотичних штамів лакто- та біфідобактерій з метою створення пробіотичних добавок з поліфункціональними властивостями.

Основні міжнародні вимоги у ході тестування пробіотиків *in vitro* включають: стійкість до кислотних умов середовища шлунково-кишкового тракту, стійкість до солей жовчних кислот, адгезивні властивості, здатність зниження адгезивної активності патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, антимікробна (антагоністична) активність до потенційних патогенних бактерій [27, 191, 221].

Відібрані штами *L. casei* MBV-7280, *L. acidophilus* MB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB є потенційно пробіотичними, тобто більшість вказаних характеристик для них були досліджені [221], але, згідно із сучасними уявленнями, одним із біотехнологічних критеріїв оцінки мікроорганізмів та встановлення параметрів, необхідних для визнання статусу пробіотичного штаму, є їх здатність до підвищення неспецифічної клітинної імунної відповіді, яка характеризується активацією макрофагів, і до стимулювання антигенспецифічних механізмів захисту, основою яких є індукція ендogenous інтерферону (ІФН) та інших цитокінів. Серед обраних мікроорганізмів проводили пошук

найефективніших штамів лакто- та біфідобактерій, яким притаманна властивість імунобіотиків.

Штами *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB отримано із асоційованої культури під час лабораторних досліджень ферментованого біологічного матеріалу. Штами *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7219, депоновано в Українській колекції мікроорганізмів в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Нашими дослідженнями показників функціонально-метаболічної активності макрофагів встановлено, що введення мишам *B. animalis* VKL, *B. animalis* VKB, *L. acidophilus* IMB B-7279, *L. casei* IMB B-7280 супроводжувалось активацією киснезалежної бактерицидної активності макрофагів перитонеальної порожнини мишей, що підтверджувалося вірогідним зростанням кількості НСТ-позитивних клітин.

Відомо, що метаболічна перебудова стимульованих фагоцитів, особливо нейтрофілоцитів, відбувається миттєво ("респіраторний вибух"), її основу складають киснезалежні реакції, у процесі яких утворюються активні форми кисню (АФК): супероксидний аніон, синглетний кисень, гідроксильний радикал, гіпохлорид. Ланцюг метаболічних перетворень здійснюється за допомогою ферменту азурофільних гранул мієлопероксидази (МПО) – одного з основних компонентів бактерицидної системи фагоцитів, висока активність якої особливо притаманна гранулоцитам [224]. Утворення активних форм кисню пов'язане з ферментом нікотинаміддинуклеотидфосфатом, відновленим (НАДФН): O_2 -оксидоредуктазою або НАДФН-оксидазою, локалізованою в плазматичній мембрані, у мембранах фагосом, у внутрішньоклітинних мембранах. Оксидази структурно і функціонально поєднані з рецепторами, які розпізнають зовнішні сигнали. Метаболічні шляхи, що виводять клітину на "респіраторний вибух", сконцентровані навколо механізмів, за допомогою яких окиснюється та відновлюється НАДФ(Н). Окисний метаболізм ФК не

тільки забезпечує їх енергетичні потреби, але й паралельно реалізує захисну функцію шляхом генерації та звільнення сполук активованого кисню під час вільнорадикального окиснення (ВРО) [200].

Підвищення показників НСТ-тесту макрофагів спостерігали на 6-добу під впливом *B. animalis VKL*, *B. animalis VKB* або *L. acidophilus* IMB B-7279 та на 12 – під впливом *B. animalis VKL*.

Пробіотичні штами *B. animalis VKB*, *B. animalis VKL*, *L. acidophilus* IMB B-7279, *L. casei* IMB B-7280 ефективно підвищували поглинальну активність макрофагів перитонеальної порожнини мишей: під впливом *B. animalis VKB* вірогідно зростав показник фагоцитозу макрофагів на 1, 6 та 12 доби, спостерігали підвищення фагоцитарного числа на 6 добу після введення мишам *L. casei* IMB ($p < 0,05$) та на 12 – після введення *B. animalis VKL* ($p < 0,01$), *L. acidophilus* IMB B-7279 ($p < 0,05$), *L. casei* IMB B-7280 ($p < 0,01$).

Введення мишам добавок лакто- або біфідобактерій приводило до стимуляції інтерфероногенезу. Однак інтенсивність та динаміка інтерфероноутворення суттєво різнилися залежно від штаму бактерій. Значне накопичення інтерферону (ІФН- α) у сироватці крові за впливу *L. acidophilus* IMB B-7279 та *B. animalis VKL* спостерігали вже через 6 год: титри інтерферону вірогідно підвищувалися ($p < 0,05$). Високий рівень сироваткового інтерферону залишався на першу та шосту доби ($9,02 \pm 0,03$ та $8,14 \pm 0,02 \log_2$ Од/см³). У мишей, які отримували *L. acidophilus* IMB B-7279, концентрація цього цитокіну у сироватці крові виявилась підвищеною і на 12 добу ($6,75 \pm 0,02 \log_2$ Од/см³). Водночас після введення мишам *B. animalis VKL* титри інтерферону на 12 добу знижувалися до рівня контролю. Після введення мишам *B. animalis VKB* титри сироваткового інтерферону не змінювалися через 6 год та на першу добу, але підвищувалися на третю добу ($p < 0,05$). На 6 та 12 доби титри інтерферону знижувалися до рівня контролю. Отримані результати показують, що досліджувані штами *L. acidophilus* IMB B-7279 та *B. animalis VKB*, *L. casei*

ІМВ В-7280 виявились ефективними індукторами інтерферону, але в різні періоди.

Останніми роками особливу увагу спрямовано на вивчення механізмів модулювального впливу лакто- та біфідобактерій на імунні реакції організму. Асоційованим із слизовою оболонкою кишечника лактобактеріям властиві універсальні імуномодулювальні властивості, що включають як імуностимуляцію, так і імуносупресію [22, 25]. Ключовим елементом вродженого імунітету є клітини фагоцитарної системи, які чинять значну дію на формування специфічної імунної відповіді – клітинної та гуморальної ланок імунітету. Через активацію фагоцитів пробіотичні штами молочнокислих бактерій можуть впливати послідовно на розвиток як вродженого, так і набутого імунітету [221].

Отже, встановлено, що різні штами бактерій у різні терміни спостереження підвищували функціональну активність клітин фагоцитарної системи, активували як поглинальну активність макрофагів, так і їх киснезалежну бактерицидність, але з різною інтенсивністю.

Таким чином, доведено, що всі пробіотичні штами – *L. casei* ІМВ В-7280, *L. acidophilus* ІМВ В-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB під час введення інтактним мишам за умов фізіологічної норми посилювали функціональну активність клітин фагоцитарної системи, що супроводжувалось активацією киснезалежної бактерицидної активності макрофагів перитонеальної порожнини та зростанням їх поглинальної активності.

Дисфункція імунної системи, яка виникає внаслідок зміни екології, широкого застосування новітніх хімічних препаратів різної природи, порушення нормальної мікрофлори тощо є однією із найважливіших причин підвищення агресивності умовно-патогенних коменсальних мікроорганізмів з подальшим розвитком інфекційно-запальних хвороб людини та тварин [104]. Одержання сучасних препаратів-імунобіотиків на

основі представників нормальної мікрофлори, зокрема штамів лакто- та біфідобактерій, є важливою проблемою сучасної біотехнології [1].

Дані літературних джерел свідчать, що імуномодулювальні властивості окремих культур лакто- та біфідобактерій суттєво відрізняються між собою, це є їх індивідуальною характеристикою. Створюючи препарати на основі лакто- та біфідобактерій з підвищеним рівнем імуномодулювальної активності – імунобіотики – доцільно забезпечити виконання всіх умов максимальної реалізації закладеного в цих бактеріях біологічного потенціалу. Стимуляційні ефекти лактобактерій проявляються в механізмах активації ретикуло-ендотеліальної системи шлунково-кишкового тракту та продукції низки цитокінів, що забезпечують баланс між гуморальним та клітинно-опосередкованим імунітетом. Найважливішим механізмом взаємодії лактобактерій та взагалі представників облигатної мікрофлори з організмом хазяїна, спрямовано на підтримку гомеостазу, є стимуляція продукції низки цитокінів [25, 31, 191].

Відомо, що антибактеріальна дія пробіотичних штамів лакто- та біфідобактерій *in vivo* опосередковано пов'язана з їх імуномодулювальними властивостями. Встановлено [1, 221], що з розвитком ефективної імунної відповіді на стафілокок відбувається активація як клітинної, так і гуморальної ланок імунітету, оскільки в патогенезі захворювань, спричинених стафілококами, певну роль відіграють як бактеріальні клітини, так і їх екзотоксини. Тому далі проводили дослідження інтактних мишей, які отримували штами лакто- та біфідобактерій.

Встановлено, що введення мишам добавок лакто- або біфідобактерій приводило до стимуляції інтерферогенезу. Однак інтенсивність та динаміка інтерфероутворення суттєво різнилися залежно від штаму бактерій. Значне накопичення інтерферону (ІФН- α) у сироватці крові за впливу *L. acidophilus* ІМВ В-7279 та *B. animalis* VKL спостерігали уже через

6 год: титри інтерферону вірогідно підвищувалися ($p < 0,05$). Високий рівень сироваткового інтерферону залишався на першу добу та 6 доби ($9,02 \pm 0,03$ та $8,14 \pm 0,02 \log_2$ Од/см³). У мишей, які отримували *L. acidophilus* ІМВ В-7279, концентрація цього цитокину у сироватці крові виявилась підвищеною і на 12 добу ($6,75 \pm 0,02 \log_2$ Од/см³). Водночас після введення мишам *B. animalis* VKL титри інтерферону на 12 добу знижувалися до рівня контролю.

Після введення мишам *B. animalis* VKB титри сироваткового інтерферону не змінювалися через 6 год та на першу добу, але підвищувалися на третю. На 6- та 12- доби титри інтерферону знижувалися до рівня контролю. Отримані результати свідчать, що досліджувані штами *L. acidophilus* ІМВ В-7279 та *B. animalis* VKB, *L. casei* ІМВ В-7280 виявились ефективними індукторами інтерферону, але в різні періоди.

Дослідженнями спонтанної продукції інтерферону клітинами селезінки встановлено, що за введення *B. animalis* VKL спостерігали підвищення здатності спленоцитів до продукції інтерферону *in vitro*. Спленоцити, отримані за першу добу, спонтанно продукували інтерферон у титрах $7,10 \pm 0,01 \log_2$ Од/см³ проти $5,08 \pm 0,01 \log_2$ Од/см³ у контролі. На 3 та 6 доби встановлено тенденцію до підвищення рівня спонтанної продукції інтерферону, однак різниця з контролем не була вірогідною. Титри інтерферону у супернатантах нестимульованих спленоцитів, отриманих на 12- добу після введення мишам *B. animalis* VKL, зберігалися на рівні контролю.

Водночас за впливу *B. animalis* VKB виявлено зниження здатності до спонтанної продукції інтерферону у спленоцитів, отриманих на 3 та 6 доби після введення. Титри інтерферону у супернатантах нестимульованих спленоцитів, отриманих на 1 та 12 доби, вірогідно не відрізнялися від контрольних показників. Спонтанна продукція інтерферону клітинами селезінки *in vitro* зростала після введення мишам *L. acidophilus* ІМВ В-7279. Проте на 3, 6 та 12 доби вони вірогідно не відрізнялися від

показників контролю. За впливу *L. casei* ІМВ В-7280 на першу добу спонтанна продукція інтерферону脾細胞тами *in vitro* зростала в 1,4 рази. На 3, 6 та 12 доби після введення мишам *L. casei* ІМВ В-7280脾細胞ти спонтанно продукували інтерферон у титрах, що не відрізнялися від показників контролю. Таким чином, після введення мишам *B. animalis* VKL та *L. acidophilus* ІМВ В-7279 на першу добу суттєво підвищувалася здатність脾細胞тів до спонтанної продукції інтерферону *in vitro*.

Встановлено, що введення пробіотиків приводило до зміни інтерфероногенної активності клітин селезінки. За введення *B. animalis* VKL спостерігали підвищення здатності脾細胞тів до продукції спонтанного інтерферону *in vitro*. На 3 добу встановлено тенденцію до підвищення рівня спонтанної продукції інтерферону: титри становили відповідно $6,4 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл, однак різниця з контролем не була вірогідною. Титри інтерферону у супернатантах нестимульованих脾細胞тів, отриманих на 12 добу після введення мишам *B. animalis* VKL, зберігались на рівні контролю.

Водночас за впливу *B. animalis* VKB встановлено зниження здатності до спонтанної продукції інтерферону у脾細胞тів, отриманих на 3 та 6 доби після введення. Титри інтерферону у супернатантах нестимульованих脾細胞тів, отриманих на 1 та 12 доби, вірогідно не відрізнялись від контрольних показників. Спонтанна продукція інтерферону клітинами селезінки *in vitro* зростала після введення мишам *L. acidophilus* ІМВ В-7279. На 1 добу титри інтерферону підвищувались до $7,00 \pm 0,04 \log_2$ Од/мл проти $5,00 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл ($P < 0,01$) у контролі. Проте на 3, 6 та 12 доби вони вірогідно не відрізнялись від показників контролю.

За впливу *L. casei* ІМВ В-7280 на 1 добу спонтанна продукція інтерферону脾細胞тами *in vitro* незначно зростала, однак різниця, порівняно з показниками контролю, виявилась невірогідною.

На 3, 6 та 12 доби після введення мишам *L. casei* ІМВ В-7280 спленоцити спонтанно продукували інтерферон у титрах, що не відрізнялось від показників контролю.

Отже, ефективними інтерфероногенами серед досліджуваних препаратів, які нами, виявились *B. animalis* VKL та *L. acidophilus* ІМВ В-7279. Після введення мишам *B. animalis* VKL та *L. acidophilus* ІМВ В-7279 на 1 добу суттєво підвищувалась здатність спленоцитів до спонтанної продукції інтерферону *in vitro*. *B. animalis* VKB, *L. casei* ІМВ В-7280 після введення мишам не впливали на спонтанну продукцію інтерферону спленоцитами *in vitro*.

Введення мишам препаратів супроводжувалось зміною здатності клітин селезінки до продукції інтерферону- α *in vitro* під дією індуктора інтерферону ридостину. Встановлено, що продукція інтерферону- α активованими ридостином *in vitro* спленоцитами підвищувалась під впливом *B. animalis* VKL. Виявлено тенденцію до підвищення титрів інтерферону- α у супернатантах стимульованих спленоцитів на 1 добу після його введення. На 3 добу титри інтерферону- α зростали суттєво – до $8,05 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл проти $6,00 \pm 0,08 \log_2$ Од/мл ($P < 0,001$) у контролі. На 6 та 12 доби після введення мишам *B. animalis* VKL спленоцити продукували інтерферон- α на рівні контролю. *B. animalis* VKB не впливав на продукцію інтерферону- α *in vitro* у відповідь на адекватну індукцію спленоцитами, отриманими на 1, 3, 6 та 12 доби після його введення: титри дорівнювали відповідно $4,8 \pm 0,01$; $6,05 \pm 0,02$; $4,1 \pm 0,02$ та $4,10 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл.

L. acidophilus ІМВ В-7279 підвищував здатність спленоцитів до продукції інтерферону *in vitro*. Після введення *L. acidophilus* ІМВ В-7279 на 1 добу спостерігали тенденцію до підвищення титрів інтерферону- α у супернатантах активованих спленоцитів ($6,05 \pm 0,36 \log_2$ Од/мл; у контролі – $5,00 \pm 0,01 \log_2$ Од/мл), тоді як на 3 добу вони зростали. На 6 та 12 доби титри інтерферону- α зменшувались до рівня контрольних показників.

За впливу *L. casei* IMB B-7280 продукція інтерферону- α клітинами селезінки *in vitro* на 1 добу вірогідно не змінювалась, але незначно підвищувалась на 3 добу. Титри інтерферону- α у супернатантах стимульованих спленоцитів не відрізнялись від показників контролю на 6 та 12 доби.

Таким чином доведено, що пробіотичні штами *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB за інтрагастрального введення інтактним мишам у дозі 1×10^6 кл. на тварину один раз на добу протягом 7 діб проявляли імуномодулювальні властивості. Так, усі ці пробіотичні штами за умов фізіологічної норми у різні терміни спостереження посилювали інтерфероутворення. Введення мишам *B. animalis* VKL, *L. acidophilus* IMB B-7279, *L. casei* IMB B-7280 приводило до підвищення здатності спленоцитів продукувати інтерферон- α *in vitro* у відповідь на адекватну індукцію ридостином на 1 та 3 доби.

Отже, досліджувані штами мікроорганізмів підвищують функціонально-метаболичну активність імунокомпетентних клітин *in vitro* та стимулюють інтерферогенез, але не однаковою мірою.

Встановлено, що штам *L. casei* IMB B-7280 був ефективнішим індуктором продукції інтерферону, тоді як *Bifidobacterium animalis* VKB – більш ефективно активував ефекторні функції макрофагів.

Для вибору найбільш перспективних штамів мікроорганізмів, які придатні для створення ефективних пробіотичних добавок, необхідно враховувати поліфакторність дії, що залежить від штаму.

Принцип спрямованої імунокорекції з пробіотиків насамперед ґрунтується на тому, що структурні компоненти клітинних стінок лакто- і біфідобактерій здатні взаємодіяти з рецепторами розпізнавання образів, зокрема з TLR-рецепторів, які присутні на поверхні фагоцитарної системи клітин, що приводить до активації внутрішньоклітинних молекулярних каскадів, які стимулюють експресію багатьох генів імунної відповіді, результатом цього є стимуляція виробництва різних імунорегуляторних

цитокінів, залежно від типу активованих TLR-рецепторів [Pinto M.V., 2009, 191). Різні штами лакто- і біфідобактерій здатні взаємодіяти з різними типами TLR-рецепторів і стимулювати синтез цитокінів різних груп, наприклад, Th1- і Th2-типу, про- та протизапальних [191]. Можливість регулювати баланс між Th1 / Th2 шляхів імунної відповіді з'являється в результаті цілеспрямованого впливу на ту чи іншу продукцію цитокінів. Вибір Th1- або Th2-типу імунної відповіді залежить від багатьох факторів, серед яких у першу чергу вказується активність антигенів, що представляють клітини (APC), і профіль цитокінів, які синтезуються в ранній стадії імунної відповіді [221]. Зокрема, виробництво ІЛ-12 з активованими макрофагами сприятиме диференціації Th0-клітин у типі I Т-хелперів і розвитку імунітету, який відіграє ключову роль у захисті тіла від багатьох поширених інфекцій [191]. Таким чином, можна припустити, що під час вибору штамів лакто- та біфідобактерій з потенціалом імуномодулювальних властивостей важливо досліджувати їх дію *in vitro* на фагоцитарну активність системи клітин і виробництво імунорегуляторних цитокінів.

Слід врахувати, що імуномодулювальна активність штамів може залежати від ступеня жорсткості (ригідності) їх клітинних стінок. Поєднання штамів з різним ступенем жорсткості клітинної стінки в одній композиції будуть корисні для створення препаратів з різною імуномодулювальною активністю [191]. За сукупністю показників, які характеризують багатофункціональність пробіотичних та метаболічних властивостей штамів, для одержання пробіотичних добавок нами обрано штами *L. casei* ІМВ В-7280 та *Bifidobacterium animalis* VKB.

Наступним етапом досліджень було одержання кормової пробіотичної добавки, яка містить обрані штами лакто- та біфідобактерій.

Запропоновано поживне середовище для культивування бактерій, захисне середовище під час висушування. Штам *L. casei* ІМВ В-7280 вирощують за $38,0 \pm 1,0$ °C протягом 18–24 год на середовищі MRC або

посівних середовищах № 1, 2. Штам *B. animalis* VKB вирощують за $38,0 \pm 1,0$ °C протягом 24–48 год на середовищах Біфідум, Блаурока або модифікованому середовищі МРС. Штами *B. animalis* VKB та *L. casei* ІМВ В-7280 довго зберігаються (2 роки і більше) в ліофільному стані. Захисне середовище під час сублімаційного висушування: сахароза 10 %, желатин 1 %, рН $7,0 \pm 0,2$. Розроблено, затверджено та зареєстровано нормативно-технічну документацію на пробіотичні кормові добавки Лактокас та Пробіфід, Технічні умови (ТУ У), вимоги безпеки, охорони довкілля під час виробництва кормових добавок, методи контролювання. Добавки відповідають вимогам розроблених ТУ У і виготовляються за технологічним регламентом, затвердженим у встановленому порядку з дотриманням санітарних норм і правил, затверджених центральними органами виконавчої влади у сфері охорони здоров'я України. За органолептичними, фізико-хімічними та біологічними властивостями і мікробіологічними показниками Пробіфід та Лактокас відповідають наступним вимогам: колір – від жовтуватого до світло-коричневого; масова частка вологи – не більше 6 %; кількість життєздатних бактерій не менше 1–2 (Пробіфід) та 4–5 млрд/г (Лактокас); стерильність препаратів – не більше 0,005 % сторонніх мікроорганізмів; нешкідливість – (доза) на одну мишу 10 мг; специфічна активність препаратів до тест-культур: 8–28 мм (Пробіфід) та 10–32 мм (Лактокас) зон затримки росту. Одержані препарати Лактокас та Пробіфід у разі тестування в умовах *in vitro* показали високу антагоністичну активність до тест-культур патогенів *Staphylococcus aureus* 209-P, *Escherichia coli* 5921, *Klebsiella pneumonia* В-920, *Pseudomonas aeruginosa* В-920, *Candida albicans* Y-1918, *Enterococcus faecalis* В-915 (ТУ У 2014).

Для оцінювання впливу на організм курчат-бройлерів одержаних кормових пробіотичних добавок проведено аналіз морфологічних та біохімічних показників крові. За результатами проведених гематологічних досліджень встановлено позитивний вплив кормових добавок на вміст у

крові бройлерів основного дихального хромопротеїду, що міститься в еритроцитах –гемоглобіну. Це свідчить про стимулювальну дію препарату на морфофункціональний стан організму, що проявлялося у покращенні забезпечення органів і тканин птиці киснем.

У ході дослідження курчат-бройлерів, яким до основного раціону додавали пробіотичні добавки Лактокас, Пробіфід і їх комплекс, мали перевагу в живій масі порівнянно з контролем. Збільшення процесів інтенсивності росту зберігається до кінця дослідження.

Наприкінці експерименту птиця, якій згодовували добавку Лактокас, достовірно переважала в масі на 3,6 %, препарат Пробіфід (3 гр) – на 2,8, у 4 групі (їх комплекс) – на 5,2% ($p < 0,01$) порівняно з бройлерами того ж віку в контрольній групі. Збереженість поголів'я бройлерів за час експерименту становила від 96,0 до 99,0 %. Збереженість птиці в 4 дослідній групі, де отримані найбільш високі показники продуктивності, склала 99,0 %. Згодовування курчатам-бройлерам пробіотичних добавок Лактокас та Пробіфід сприяє не лише підвищенню їх продуктивності, а й зниженню витрат корму на 1 кг приросту. Найнижчими вони були у курчат-бройлерів 4 групи, які витрачали на 1 кг приросту на 5,9 % менше, ніж аналоги контрольної групи.

Отримані дані є підставою для використання комплексу пробіотиків з метою підвищення продуктивності у процесі виробництва м'яса бройлерів.

У наступній серії дослідів вивчали вплив комплексу пробіотичних добавок на біохімічні, імунологічні, антиоксидантні показники та продуктивність курчат-бройлерів.

Уміст загального білка в крові бройлерів дослідної групи був вищим порівняно з концентрацією у крові курчат контрольної групи. У курчат-бройлерів дослідної групи спостерігали тенденцію до зниження активності маркерних ензимів (АлАТ, АсАТ), зменшення вмісту сечової кислоти та креатиніну і зростання вмісту кальцію. Збільшення вмісту кальцію у крові

курчат-бройлерів доведено дослідженнями, в яких встановлено, що за використання пробіотиків збільшується утворення НЖК (ацетату, лактату, пірувату, бутирату), що знижує рН у кишечнику та сприяє засвоєнню кальцію в організмі. Встановлено тенденцію до зниження вмісту сечової кислоти та креатиніну у крові курчат-бройлерів дослідної групи, але вони були невірогідні. У ході аналізу ліпідного спектра крові встановлено вірогідне зниження вмісту триацилгліцеролів на 19,0 і холестеролу на 17,9 % у курчат дослідної групи щодо аналогічних показників контрольної групи, що узгоджується з дослідженнями, в яких встановлено зниження вмісту ТАГ та ХС у крові бройлерів за введення пробіотиків [188]. У дослідях *in vitro* встановлено, що лактобактерії знижують вихід холестерину з клітин печінки за рахунок пригнічення активності 3-гідрокси-3-метилглютарил-коензим А (ГМГ-КоА) редуктази, яка відіграє ключову роль у синтезі цього стерину. Відомо, що основний попередник холестеролу ендогенного походження – ацетат [75]. Утворення ацетату значною мірою залежить від ферментації анаеробними та мікроаерофільними бактеріями кишечника різних сполук карбону. Відомо, що пропіонат, який утворюється в товстому кишечнику за анаеробної ферментації вуглеводів бактеріями, здатний знижувати рівень холестеролу в сироватці крові за рахунок пригнічення його синтезу гепатоцитами. Таким чином, використовуючи різні штами пробіотиків, змінюючи баланс ацетату, пропіонату та інших летких жирних кислот в організмі господаря, можна регулювати кількість синтезованого клітинами холестерину [75].

Тіол-дисульфідна системи є важливим компонентом неензимного ланцюга антиоксидантного захисту та редокс-системи організму. Дослідженнями вмісту відновлених та окиснених тіолових груп (HS-груп і -S-S-груп) у крові бройлерів, які отримували препарати лакто- та біфідобактерій, встановлено вірогідне збільшення кількості сульфогідрильних груп (HS-), тенденцію до зменшення кількості дисульфідних груп (-S-S-) та підвищення тіол-дисульфідного

співвідношення (HS-/-S-S-), що свідчить про відновлення рівноваги окисно-відновної системи глутатіону, яка слугує модулювальним фактором антипероксидантного захисту та реалізується через взаємозв'язок із іншими метаболічними шляхами біохімічної детоксикації.

Одним із основних механізмів неспецифічної резистентності організму є клітинна ланка. Дослідженнями впливу пробіотичних добавок на неспецифічну резистентність курчат-бройлерів, встановлено зміни показників фагоцитарної активності нейтрофілів та фагоцитарного індексу.

Встановлені зміни показників неспецифічної резистентності курчат-бройлерів під час застосування добавок Лактокас та Пробіфід.

Досліджено зростання показників неспецифічної резистентності організму курчат-бройлерів у разі застосування пробіотичних добавок. Так, на 10, 20 та 42 доби досліду застосування підвищилась фагоцитарна активність нейтрофілів, відповідно, на 8,, 5,7 та 12,1 %, а фагоцитарний індекс збільшився на 11,8, 15,5 12,7 % порівняно з контролем. Результати свідчать про активацію неспецифічних факторів захисту організму птиці та підвищення поглинальної здатності нейтрофілів у разі застосування пробіотичних добавок.

Спонтанний НСТ-тест дозволяє оцінити ступінь активації кисне-залежних механізмів кілінгу неактивованих фагоцитів. Він відображає активність інтралейкоцитарної бактерицидної системи, як однієї з важливих ланок неспецифічної резистентності організму. Значення стимульованого НСТ-тесту характеризує активність фагоцитувальних клітин у присутності антигенного подразника і характеризується як біологічний критерій їх готовності до завершеного фагоцитозу.

Таким чином, отримані результати свідчать про активацію неспецифічних факторів захисту організму птиці та підвищення функціонально-метаболічної здатності нейтрофілів у разі застосування пробіотичних добавок.

На наступному етапі досліджували склад мікрофлори кишечника курей-бройлерів за застосування поліфункціональних кормових пробіотичних добавок.

Життєдіяльність живого макроорганізму та стабільність набутого імунітету тісно пов'язана з активністю нормальної мікрофлори кишечника. Відомо, що різка зміна оптимального співвідношення представників різних груп мікроорганізмів у кишечнику в бік факультативної мікрофлори призводить до зниження резистентності організму [14]. Найчастіше у кишечнику зменшується кількість біфідо- та лактобактерій, які виконують в організмі низку захисних функцій: стимулюють лімфоїдний апарат, індують синтез імуноглобулінів, інтерферонів, цитокінів, збільшують кількість пропердину та комплементу, підвищують активність лізоциму та сприяють зменшенню проникності судинних, тканинних бар'єрів для токсичних продуктів патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, синтезують антибіотикоподібні речовини, вітаміни групи В тощо [29, 64].

Досліджено, що на 10 добу застосування пробіотиків Лактокас та Пробіфід у 12-палій кишці курчат-бройлерів кількість *E. coli* не зазнавала вірогідних змін, а бактерій *Lactobacillus* виділяли на 5,9 % та *Bifidobacterium* – на 6,8 % більше. На 20 добу рівень заселення кишкової палички був нижчим на 10,2 %, а лакто- та біфідобактеріями – вірогідно підвищувався на 13,4 та 8,6 %. На 42 добу застосування пробіотиків у дослідній групі бройлерів кількість лакто- та біфідобактерій вірогідно зростала, відповідно, на 12,7 та 18,5 %. Щодо кишкової палички, то в дослідній групі бройлерів її кількість була на 17,5 % меншою, ніж у контрольній групі.

На 10 добу досліду кількість *E. coli* у сліпій кишці курчат-бройлерів зменшилась порівняно з контролем на 5,4 %, а вміст лакто- та біфідобактерій зріс ($p < 0,05$), відповідно, на 7,9 та 9,2 %. На 20 добу кількість кишкової палички зменшилася на 6,9 %, а рівень заселення лакто- та біфідобактеріями вірогідно підвищився на 13,4 та 8,6 % щодо контролю. На

42 добу кількість *E. coli* зменшилася на 7,9 % ($p < 0,01$), а кількість лакто- та біфідобактерій – збільшилася на 21,9 та 13,1 %.

Отже, під час застосування пробіотиків Лактокас та Пробіфід загальна кількість лакто- і біфідобактерій стабільно зростала, а кількість кишкової палички на початку досліджень вірогідно не змінювалася, проте в подальшому – зменшувалася. За використання досліджуваних пробіотиків відбулася корекція вмісту мікрофлори кишечника курчат у бік збільшення кількості корисних анаеробних мікроорганізмів, зокрема біфідобактерій, які запобігають колонізації організму птиці патогенами та мають здатність формувати біоплівку на поверхні слизової кишечника. Це підвищує стійкість птиці до захворювань шлунково-кишкового тракту (36).

На 10 добу застосування комплексу пробіотиків Лактокас та Пробіфід у дослідній групі мікроорганізмів роду *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* виділяли з м'язового шлунка, тонкої, сліпої та прямої кишок, відповідно, на 4,0; 5,4; 7,4; 9,1; 7,9; 9,0; 6,4 та 9,9 % більше, ніж у контрольній групі. Щодо *E. coli*, то їх кількість у відповідних відділах кишечника зменшувалась, порівняно з контролем, відповідно, на 2,9; 5,6; 5,1 та 7,3 %.

На 42 добу застосування комплексу пробіотиків Лактокас та Пробіфід, у дослідній групі мікроорганізмів роду *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* виділяли з м'язового шлунка, тонкої, сліпої та прямої кишок, відповідно, на 7,8; 7,5; 10,7; 10,1; 21,9; 13,1; 18,5 та 8,9 % більше, ніж у контрольній групі. Щодо *E. coli*, то у дослідній групі мікроорганізмів виділяли з м'язового шлунка, тонкої, сліпої та прямої кишок, на 11,9; 13,6; 16,1 та 17,5 % менше, ніж у контрольній групі. Досліджено, що, у м'язовому шлунку кількість мікроорганізмів менша, ніж в інших відділах та складає 10^3 – 10^5 КУО/г) через наявність у ньому шлункових соків, які пригнічують розмноження. Найбільше мікроорганізмів виявляли в кінцевих відділах тонких кишок, сліпій та прямій кишках (10^7 – 10^{11} КУО/г).

Відомо, що близько 99 % від загальної кількості мікроорганізмів сліпої чи товстої кишок птахів різних видів становлять біфідо- та лактобактерії [11, 29]. Факультативна мікрофлора кишечника здорової птиці представлена умовно-патогенними стафілококами, стрептококами, гемолізуючими кишковими паличками, протеєм та грибками. У різних відділах шлунково-кишкового тракту птахів кількість мікроорганізмів різна. Так, у залозистому та м'язовому шлунках їх менше у зв'язку з наявністю в ньому шлункових соків, які пригнічують розмноження. У дванадцятипалій кишці виявлено незначну кількість мікрофлори через присутність жовчі, однак з неї виділяють кишкові палички, ентерококи і спорові бактерії. Тонкий кишечник заселений кишковими паличками, ентерококами, споровими та лактобактеріями. Загальна кількість мікроорганізмів у ньому становить 10^5-10^6 КУО/г. Найбільше мікроорганізмів у кінцевих відділах тонких кишок, сліпій та прямій кишках (10^7-10^9 КУО/г). За видовим складом це представники тих самих родів, що й у тонкому кишечнику, однак у значно більшій кількості [29].

Зміни видового складу мікроорганізмів та їх співвідношення відбуваються впродовж 42 діб після вилуплення [91]. Це проходить в імунодепресивні періоди, які у постембріогенезі курчат-бройлерів припадають на 3–5, 12–20 та 42–45 доби. Так, концентрація лакто- і біфідо-бактерій, кількість яких у кишечнику курчат найбільша, до 28 доби зменшується, і дуже важливо, щоб пробіотики компенсували ці зміни. Таким чином встановлено, що за введення комплексу пробіотиків у імунодепресивні періоди не спостерігали домінування бактерій умовно-патогенних видів.

Отже, за застосування кормових добавок проходила корекція мікрофлори кишечника птиці у бік збільшення корисних мікроорганізмів та зменшення умовно-патогенної мікрофлори, що вказує на доцільність використання препаратів Лактокас та Пробіфід, які є екологічно чистими,

фізіологічними і безпечними, для нормалізації мікрофлори організму тварин, особливо за умов промислового ведення птахівництва.

У разі вирощування курчат-бройлерів на м'ясо інтегральним показником продуктивності птиці є жива маса.

Досліджено, що практично упродовж всього терміну вирощування курчата-бройлери дослідних груп перевершували аналогів з контрольної групи. У 14-денному віці курчата дослідної групи, де застосовувався комплекс пробіотичних препаратів Лактокас і Пробіфід, мали найбільшу живу масу й перевершували однолітків з контрольної групи на 20,6 г.

Результати експерименту показують, що забійний вихід курей з дослідної групи був вищим, ніж у контролі на 8,04 %. Це означає, що зростання живої маси курчат-бройлерів у першій групі підтверджується перевищенням по забійному виходу.

Наприкінці експерименту птиці, яким згодовували комплекс – на 5,2 ($p < 0,01$) порівняно з бройлерами того ж віку в контрольній групі. У той же час визначали вплив пробіотиків і їх комплексу на приріст живої маси бройлерів. Споживання бройлерами досліджених пробіотичних препаратів сприяє підвищенню абсолютних приростів за період досліду. Встановлено, що в результаті дії комплексу пробіотиків найбільш високий абсолютний приріст спостерігали у бройлерів дослідної групи, що було на 6,8 % вище порівняно з контролем. Таким чином, використання пробіотичних добавок у раціонах бройлерів сприяє збільшенню живої маси бройлерів і абсолютного приросту.

Збереженість поголів'я бройлерів за час експерименту становила від 96,0 до 99,0 %. Збереженість птиці в дослідній групі, де отримані найбільш високі показники продуктивності, склала 99,0 %.

Показником, що характеризує біологічну повноцінність м'яса, є білково-якісний показник (БКП) – відношення незамінної амінокислоти триптофану до замінних амінокислот оксипроліну. БКП грудного та стегнового м'язів бройлерів дослідної групи мають кращі показники щодо

контрольної та інших досліджуваних груп. Проведення дегустаційної оцінки показало, що смакові якості м'яса і бульйону з м'яса курчат-бройлерів, у раціон яких включені пробіотичні добавки, поліпшуються. Отримані нами дані є підставою для використання комплексу пробіотиків з метою підвищення продуктивності у процесі виробництва м'яса бройлерів.

Отже, проведені дослідження з використання в годівлі курчат-бройлерів пробіотичних препаратів Лактокас і Пробіфід показали їх високу ефективність. Застосування пробіотиків у раціонах курчат-бройлерів підвищує збереженість поголів'я, збільшує продуктивні показники курчат-бройлерів: приріст живої маси відповідно, на 2,8–5,2 %; вихід їстівних частин тушок – на 3,6 %; знижує витрати корму на приріст живої маси, підвищує рентабельність виробництва м'яса птиці. Найбільш економічно ефективним варіантом застосування нової пробіотичної добавки є одночасне введення в комбікорми препаратів Лактокас і Пробіфід на весь період вирощування курчат.

Найвищий вихід патраної тушки – співвідношення маси патраної тушки (без пір'я, крові, кишечника, голови, ніг, маси корму в м'язовому шлунку, статевих органів, нирок і селезінки) до живої маси – виявлено у курчат-бройлерів на рівні 75,9% у дослідній групі. Найнижчі показники виходу патраної тушки – у бройлерів контрольної групи. З огляду на наведений матеріал, слід зазначити, що додавання кормової добавки приводить до вірогідного підвищення живої маси бройлерів у віці 42 доби на 6,8 % ($p < 0,001$).

Згодовування пробіотичних кормових добавок курчатам-бройлерам по-різному вплинуло на хімічний склад грудних м'язів. Встановлено, що вміст сухої речовини у грудних м'язах дослідної групи мав тенденцію до збільшення. Слід відмітити, що збільшення вмісту сухої речовини привело до зменшення загальної вологи у м'ясі курчат дослідної групи на 0,82 %, жиру на 0,8 % та підвищення показника масової частки протеїну на 0,63.

Інші показники якості досліджуваних, грудних м'язів не мали вірогідної різниці порівняно з контрольними аналогами. Хімічний склад стегнових м'язів курчат-бройлерів дослідної групи за дії пробіотичних добавок також мав свої особливості.

Так, кількість сухої речовини у стегнових м'язах бройлерів дослідної групи за використання досліджуваної пробіотичної добавки практично не змінилась, а вміст загальної вологи зменшився на 1,56 %. Водночас дослідження в м'язовій тканині жиру показали зменшення на 1,1 % порівняно з контрольною. Однією з основних вимог до пробіотиків є їх нешкідливість для організму господаря. Досліди з визначення порівняльної біологічної цінності м'яса бройлерів проводилися з використанням інфузорії *Tetrachimena piriformis*. Додавання комплексу пробіотиків приводить до підвищення рівня відносної біологічної цінності великого грудного м'яза на 11,7 %.

Таким чином, за результатами досліджень встановлено, що включення пробіотиків до складу раціону бройлерів позитивно впливає на показники продуктивності, не справляє негативного впливу на якість одержаної продукції.

Узагальнюючи результати проведених досліджень, на основі отриманих біохімічних, мікробіологічних та імунологічних даних можна зробити висновок про позитивний вплив кормових пробіотичних добавок Лактокас та Пробіфід на важливі ланки імунного захисту організму і підвищення приростів маси тіла бройлерів. Доведено ефективність застосування пробіотиків та їх комплексу для оптимізації біохімічних показників крові бройлерів.

Основним показником ефективності птахівництва є собівартість виробленої продукції. Прибуток за вирощування бройлерів у дослідній групі був вищим на 9,1 %. За рахунок додаткових приростів маси бройлерів, яким вводили комплекс пробіотиків, не тільки відшкодовувалися витрати, але й підвищувалася рентабельність на 6,2 %.

ВИСНОВКИ

На основі комплексних імунологічних, мікробіологічних, біохімічних досліджень встановлено біотехнологічні критерії відбору потенційно пробіотичних штамів бактерій, на основі яких розроблено нові кормові пробіотичні добавки та експериментально доведено ефективність їх використання за вирощування курчат-бройлерів.

1. Доведено, що досліджені штами бактерій за фізіологічної норми активують ефекторні функції макрофагів перитонеального ексудату мишей *in vitro*: утворення реактогенних метаболітів кисню, що проявлялись у зростанні киснезалежного метаболізму за показниками спонтанного ($p < 0,01$) і стимульованого НСТ-тестів ($p < 0,01$) та індукції інтерферону ($p < 0,001$).

2. Встановлено, що пробіотичні штами *B. animalis* VKB, *B. animalis* VKL, *L. acidophilus* ІМВ В-7279, *L. casei* ІМВ В-7280 ефективно підвищували поглинальну активність макрофагів перитонеальної порожнини мишей: під впливом *B. animalis* VKB вірогідно зростав показник фагоцитозу макрофагів на 1, 6 та 12 доби, спостерігали підвищення фагоцитарного числа на 6 добу після введення мишам *L. casei* ІМВ ($p < 0,05$) та на 12 добу після введення *B. animalis* VKL ($p < 0,01$), *L. acidophilus* ІМВ В-7279 ($p < 0,05$), *L. casei* ІМВ В-7280 ($p < 0,01$).

3. Уведення мишам добавок лакто- або біфідобактерій приводило до підвищення функціонально-метаболічної активності імунокомпетентних клітин *in vitro* та стимуляції інтерферогенезу, але не однаковою мірою: штам *L. casei* ІМВ В-7280 був ефективнішим індуктором продукції інтерферону ($p < 0,01$), тоді як *Bifidobacterium animalis* VKB більш ефективно активував ефекторні функції макрофагів.

4. Встановлено, що за низкою критеріїв (функціонально-метаболічна та імуномодулювальна активність) штами *L. casei* ІМВ В-7280 та *B. animalis* VKB є найбільш перспективними для створення пробіотичних

кормових добавок, дія яких спрямована на елімінацію патогенних бактерій із організму, корекцію системи імунітету та гіпохолестеринемічну здатність.

5. На основі вибраних штамів одержано добавки Лактокас та Пробіфід, розроблено технологічний регламент виготовлення, ТУ У, настанови по застосуванню. Добавки Лактокас та Пробіфід в умовах *in vitro* виявили високу антагоністичну активність до тест-культур патогенів *Staphylococcus aureus* 209-P, *Staphylococcus aureus* spp., *Escherichia coli* 5921, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* Y-1918, *Enterococcus faecalis*.

6. Уведення добавок Лактокас та Пробіфід до раціону бройлерів покращує показники антиоксидантного та ліпідного статусу в їхньому організмі. За згодовування комплексу пробіотиків у сироватці крові бройлерів вірогідно знижується концентрація холестеролу ($p < 0,01$) та триацилгліцеролів ($p < 0,05$), збільшується кількість сульфогідрильних груп (-SH) та зменшується – дисульфідних груп (-S-S-), а тіол-дисульфідне співвідношення підвищується ($p < 0,05$). Встановлено, що пробіотичні кормові добавки Лактокас та Пробіфід підвищують функціональну активність нейтрофілів крові курчат та покращують показники оксигенозалежного метаболізму: спонтанного ($p < 0,05$) та стимульованого ($p < 0,01$) НСТ-тестів, показник фагоцитозу та фагоцитарне число ($p < 0,01$).

7. Додавання пробіотичної добавки вплинуло на мікробіологічні показники у кишечнику птиці: у 12-палій кишці курчат-бройлерів на 10 добу застосування кількість *E. coli* не зазнавала вірогідних змін, а бактерій роду *Lactobacillus* виділяли на 5,9 % та *Bifidobacterium* – на 6,8 % більше стосовно контрольної групи. На 20 добу рівень заселення кишковою паличкою був нижчим на 10,2 %, а лакто- та біфідобактеріями – вірогідно підвищувався на 13,4 та 8,6 %. На 42 добу застосування пробіотиків кількість лакто- та біфідобактерій вірогідно зростала – на 12,7 та 18,5 %.

При цьому кількість кишкової палички була на 17,5 % меншою, ніж у контролі.

8. Застосування пробіотичних добавок курчатам-бройлерам сприяло зменшенню на 10 добу досліду кількості *E. coli* у сліпій кишці на 5,4 %, проте кількість лакто- та біфідобактерій зросла ($p < 0,05$), відповідно, на 7,9 та 9,2 %. На 20 добу вміст кишкової палички знизився на 6,9 %, а рівень заселення лакто- та біфідобактеріями вірогідно підвищився – на 13,4 та 8,6 % відповідно, на 42 добу кількість *E. coli* зменшилася на 7,9 % ($p < 0,01$), а лакто- та біфідобактерій – збільшилася на 21,9 та 13,1 %.

9. За згодовування курчатам-бройлерам кормової пробіотичної добавки встановлено підвищення у м'ясі бройлерів дослідної групи масової частки протеїну на 0,63 та 2,92 % та зниження вмісту жиру на 0,8 та 1,1 %, вмісту холестеролу у грудному м'язі – на 2,7, у м'язах ніг – на 6,1 %. Уведення комплексу пробіотиків до раціону курчат-бройлерів сприяє підвищенню показника якості білка м'яса великого грудного м'яза на 8,4 %.

10. Використання пробіотичної добавки у складі комбікорму для курчат-бройлерів приводить до зниження собівартості 1 кг приросту маси на 4,3 % та підвищення рівня рентабельності вирощування курчат-бройлерів на 6,2 %.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

З метою підвищення інтенсивності росту та збереженості курчат-бройлерів пропонуємо уводити в комбікорм кормову добавку пробіотиків Лактокас та Пробіфід у дозі, відповідно, 0,4 та 0,5 г/ кг корму.

У практиці промислового птахівництва та науково-дослідній роботі доцільно використовувати результати досліджень, які викладені у методичних рекомендаціях, ТУ У, настановах по застосуванню пробіотиків Лактокас та Пробіфід.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антибактеріальні й імуномодулювальні властивості штамів лакто- та біфідобактерій за експериментальної стафілококової інфекції / В. В. Мокрозуб, Л. М. Лазаренко, Л. П. Бабенко [та ін.]. // Біотехнологія. – 2012. – Т. 5, № 2 – С. 98–104.
2. Антипова Л.В. Методы исследования мяса и мясных продуктов / Л.В. Антипова – М.: Колос, 2001. – 376 с.
3. Бабина М.П. Коррекция иммунного статуса и повышение продуктивности цыплят-бройлеров пробиотиками / М.П.Бабина // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – Горки, 1998. – С. 294–299.
4. Веревкина И. В. Колориметрический метод определения SH-групп и S-S-связей в белках при помощи 5,5 дитиобис (2-нитробензойной) кислоты / И. В. Веревкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 223–231.
5. Вивчення ефективності застосування пробіотиків та пребіотиків на імунологічні та мікробіологічні показники перепелів / [Д.Д. Маляр, Ю.О. Мельниченко, Я.В. Соломонюк, В.С. Бітюцький] // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. – Біла Церква, 2013. – Вип. 10 (105). – С. 53–56.
6. Влияние препаратов интерферона α/β - и γ -типов на функциональную активность макрофагов при экспериментальной стафилококковой инфекции / [Н.Е. Вихоть, Н.Я. Спивак, Л.Н. Черная, Е. Пастер] // ЖМЭИ. – 1989. – № 4. – С. 57–60.
7. Влізло В. В. Засоби підвищення резистентності курчат / В. В. Влізло, М. А. Сімонов, В. П. Каплінський // Ветеринарна медицина України. – 2006. – № 7. – С. 42–47.
8. Вплив кормової суміші полібіоніка на організм курчат-бройлерів / [Н. Е. Лісова, М.І. Жила, І. К. Авдосьєва та ін.] // Наук.-техн. бюл. ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок, Інститут біології тварин. – 2015. – Вип. 16, № 1. – С. 147–151.

9. Вплив мультипробіотика «Апібакт®» на продукцію інтерферону й активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах тимуса щурів за умов гіпоацидності, викликаной омепразолом / І.В. Компанець, С.В. Пилипенко, О.Г. Короткий [та ін.] // Біологічні студії. – 2013. – Т.7, № 2. – С.27–36.
10. Вплив нового вітчизняного пробіотика «Біонорм П» на ефективність вакцинації проти вірусних захворювань бройлерів / І.К. Авдосьєва, В.В. Регенчук, О.Б. Басараб [та ін.] // Ветеринарія. – 2011. – № 10 (107). – С. 12–14.
11. Гарда С.О. Біотехнологічні аспекти аналізу мікрофлори сільськогосподарської птиці / С. О. Гарда, С. Г. Даниленко, Г. С. Литвинов // *Biotechnologia acta*. – 2014. – Vol. 7, № 4. – С. 25–34.
12. Головин М.А. Разработка пробиотической композиции с высокой способностью к редукции холестерина: / автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 03.01.06 – биотехнология / М.А. Головин. М., 2015.– 19 с.
13. Дехтяренко Н. В. Критерії відбору пробіотичних штамів мікроорганізмів / Н. В. Дехтяренко, Л. М. Шинкаренко, О. М. Дуган // Біологія та екологія. – 2007. – Т. 67. – С. 30–36.
14. Донник И.М. Анализ дисбиотических нарушений в кишечнике птицы промышленного стада / И.М. Донник // *Аграрный вестник Урала*. –2007. – № 6. – С. 36–38.
15. Дослідження імуномодулювальної дії нових пробіотичних препаратів / [Ю.О. Мельниченко, Д.Д. Маляр, Л.М. Лазаренко та ін.] // *Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин; ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок*. – 2014. – Вип. 15, № 1. – С. 201–208.
16. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях // СЕД 123 – Защита позвоночных животных. – Страсбург, 1986. – С. 1–13.
17. Жила М. І. Фармакологічні властивості пробіотичних кормових добавок та їх вплив на продуктивність поросят при відгодівлі / М. І. Жила, Т. Р. Левицький, І. М. Кушнір // *Науково-технічний бюлетень Інституту*

- біології тварин, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2014. – Вип. 15. – № 1. – С. 158–163.
18. Жила М.І. Порівняльна оцінка фармакологічних властивостей пробіотичних препаратів при їх клінічному випробуванні / М.І. Жила // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – 2014. – Т. 16, № 3 (60). – Ч. 2. – С. 99–105.
19. Засекін Д. У СОТ та ЄС – без антибіотиків у кормах і продукції тваринництва / Д. Засекін, В. Прус, О. Рева // Ветеринарна медицина України. – 2006. – № 4. – С. 30–31.
20. Зміни в складі кишкової мікрофлори японського перепела при використанні пробіотичної добавки / [М.В. Камінська, Г.В. Колисник, Ю.В. Кулай, Н.І. Борецька] // Науково-технічний бюлетень. – 2009. – 10 (2). – С. 270–274.
21. Использование биологически активных кормовых добавок для повышения питательных свойств комбикормов и увеличения норм ввода в комбикорма шротов и жмыхов / [Д.С. Павлов, И.А. Егоров, Р.В. Некрасов, К. С. Лактионов] // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – № 1. – С. 89–92.
22. Імуномодельовальна активність пробіотичних штамів лакто- та біфідобактерій *in vitro* та *in vivo* / [Лазаренко Л.М., Мокрозуб В.В., Бабенко Л.П. та ін.] // Тези доповідей XIII з'їзду Товариства мікробіологів ім. С.М. Виноградського (Ялта, 1–6 жовт. 2013 р.). – Ялта, 2013. – С. 278.
23. Імуномодулювальні властивості пробіотика на основі молочнокислих бактерій та рослинного компонента / [Л.Б. Орябінська, В.Д. Прасанна, Л.Н. Лазаренко, О.М. Дуган] // Наукові вісті НТУУ “КПІ”. – 2014. – № 3. – С. 58–62.
24. Імуномодулювальні властивості синбіотичних композицій пробіотичних штамів *Bacillus subtilis*, лактиту або лактулози / Л.В. Авдєєва, Л.М. Лазаренко, Ю.О. Мельниченко [та ін.] // Мікробіол. журн. – 2015. – Т.77, № 1 – С. 20–25.

25. Інтерфероногенна активність лактобактерій / [С.О. Старовойтова, Н.О. Тимошок, М.Я. Співак, В.Ю. Горчаков] // Імунологія та алергологія. – 2007. – № 4. – С. 24–27.
26. Каблучеева Т.И. Влияние микрофлоры на переваривание углеводов в кишечнике птицы при разном уровне протеина в рационе / Т.И. Каблучеева // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2007. - № 3. – С. 82-84.
27. Калініченко С.В. Сучасний стан розробки та застосування пробіотичних, пребіотичних та синбіотичних препаратів / С.В. Калініченко // Анналі Мечниковського інституту. – 2013. – № 3. – С. 5–12.
28. Калініченко С.В. Сучасні напрямки створення та удосконалення пробіотиків / С.В. Калініченко, О.О. Коротких, І. Ю. Тіщенко // Український біофармацевтичний журнал. – 2016. – № 1 (42). С. 4–9.
29. Камінська М.В. Мікрофлора травного тракту сільськогосподарської птиці: склад, основні функції, причини та наслідки порушень / М.В.Камінська // Птахівництво: міжвідомч. наук. тем. зб. – 2010. – Вип. 65. – С. 14–25.
30. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: [В 2 т.] / В.С.Камышников. – Минск: Беларусь, 2000. – Т.1. – 495 с.
31. Кетлинский С.А. Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции воспаления и иммунитета / С.А Кетлинский, Н.М. Калинина // Иммунология. – 1995. – № 3. – С. 30–44.
32. Кишечна мікрофлора: вплив на неї пробіотиків та пребіотиків / [В.М. Рудіченко, М.О. Одинець, І.І. Тодорашко, В.В. Черватюк] // Фармакотерапія. – 2014. – № 9 (185). – С. 32–35.
33. Кишкун А.А. Биохимические исследования в клинической практике: Руководство для врачей / А. А. Кишкун // МИА. – 2014. – 528 с.
34. Колб В.Г. Пособие для врачей-лаборантов / В.Г. Колб, В.С. Камышников // Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – 311 с.

35. Колотницький В.А. Імунофізіологічний стан організму птиці у різні вікові періоди та при застосуванні імуномодуляторів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 03.00.13 “Фізіологія людини і тварин” / В.А. Колотницький. – Львів, 2009. – 20 с.
36. Коцюмбас Г.І. Гістологічна, гістохімічна характеристика та морфометричні і мікробіологічні показники сліпих кишок курей-бройлерів за згодовування кормів з різним вмістом пробіотиків / Г.І. Коцюмбас, А.К. Костинюк // Біологія тварин. – 2016. – Т. 18, № 1. – С. 52–60.
37. Коцюмбас І.Я. Пробіотики – необхідна складова при сучасних технологіях вирощування тварин / І.Я. Коцюмбас, М.І. Жила, М.І. Шкіль // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – 2013. – Т. 15, № 3 (57). – Ч. 2. – С. 174–181.
38. Кочер Э. Кишечная микрофлора и здоровье пищеварительного тракта / Э. Кочер // Эффективное птицеводство. – 2006. – № 3 (15). – С. 28–34.
39. Куваева И. Б. Обмен веществ организма и кишечная микрофлора: монография / И. Б. Куваева. – М.: Медицина, 1976. – 248 с.
40. Кушнір І. Для здоров'я кишечника / І. Кушнір, І. Семен // Наше птицеводство. – 2014. – № 6 (36). – С. 66–67.
41. Кушнір І. М. Вивчення біологічних властивостей пробіотичних штамів мікроорганізмів / І. М. Кушнір, І. С. Семен, У. З. Майба // Наук.-техн. бюл. ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок та Ін-ту біології тварин. – 2015. – Вип. 16, № 2. – С. 207–212.
42. Кушнір І. М. Вивчення впливу спороутворювальних мікроорганізмів на нормофлору кишечника курей – важливий етап конструювання пробіотичного препарату / І. М. Кушнір // Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького. – 2015. – Т. 17, № 2 (62). – С. 108–113.
43. Кушнір І.М. Вплив біологічно активного засобу на основі пептидоглікану на мікрофлору кишечника лабораторних тварин / І.М. Кушнір, В. І. Кушнір, І. С. Семен // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – 2014. – Вип. 15, № 2–3. – С. 162–166.

44. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / под ред. И.П. Западнюка. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
45. Лактокас: Технічні умови України (ТУ У) 10.9–2960512097-001:2013. ДКПП 10.91. / О.А. Демченко, М.Я. Співак, Л.М. Лазаренко, Н.О. Тимошок, О.М. Мельниченко, В.С. Бітюцький, В.М. Зоценко, Л.П. Бабенко, В.В. Мокрозуб, В.П. Музыка, Д.Д. Маляр, Ю.О. Мельниченко.
46. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с применением “Excel” / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
47. Лаповець Л.Є. Посібник з лабораторної імунології /Л.Є. Лаповець, Б.Д. Луцик. – Львів, 2002. – 173 с.
48. Лимфоциты: Методы / пер. с англ.; под ред. Дж. Клауса. – М.: Мир, 1990. – 396.
49. Лысенко С.Н. Использование пробиотических препаратов лактобактерин и бифитрилак вместо антибиотиков / С. Н. Лысенко // Веткорм. – 2009. – № 5. – С. 10–11.
50. М'ясо птиці (тушки курей, качок, гусей, індиків, цесарок): ДСТУ 3143-95. – [Чинний від.1997 – 01–01]. – К.: Держстандарт України, 1997 – 19с. – (Нац. стандарт Укр.)
51. Машкін Ю.О. Гематологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів під впливом пробіотика “Протекто-актив” / Ю.О. Машкін // Сучасне птахівництво. – 2010.– № 2. – С. 26–28.
52. Маянский Д. Н. Кооперативное взаимодействие клеток при иммунном ответе / Д. Н. Маянский // Успехи современ. биол. – 1982. – Т.93, № 2. – С. 3–9.
53. Маянский Д.Н. Секреция макрофагов / Д.Н. Маянский // Успехи современ. биол. – 1982. – Т. 93, № 1. – С. 73–88.
54. Мельниченко Ю.О Вплив пробіотичних препаратів на біохімічні показники крові курчат-бройлерів / Ю.О. Мельниченко // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. – Біла Церква, 2015. – № 1 (116). – С.180–183.

55. Мельниченко Ю.О. Вплив нових пробіотичних штамів бактерій на продукцію інтерферону / Ю.О. Мельниченко, Д.Д. Маляр, Л.М. Лазаренко // Наук. вісник НУБіПУ. – 2014. – Вип. 184 (4). – С. 332–339.
56. Мельниченко Ю.О. Склад мікрофлори кишечника курчат-бройлерів за застосування поліфункціональних пробіотиків / Ю.О. Мельниченко // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. – Біла Церква, – 2015. – № 2 (120). – С. 29–32.
57. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики под редакцией Сайтаниди В.Н. / И.П. Кондрахин, А.В. Архипов, В.И. Левченко [и др.]: – М.: Колос, 2004. – С. 520.
58. Мікробіологічний моніторинг мікрофлори кишечника курей при застосуванні пробіотика ProBion / [І. Я. Коцюмбас, І.М. Кушнір, О.І. Чайковська та ін] // Наук.-техн. бюл. Ін-т у біології тварин, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – 2012. – Вип. 13, № 3–4. – С. 207–210.
59. Мікроекологічна система кишечника бройлерів та способи її біонормалізації / [В. Г. Стояновський, І.А. Коломієць, В.А. Колотницький, О.І. Камрацька] // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – 2013. – Т. 15, № 3 (57). – С. 319–322.
60. Мокрозуб В.В. Показники імунітету / В.В. Мокрозуб // Науковий вісник Ужгород. нац. ун-ту. – 2010. – Вип. 27. – С.34–36.
61. Насонова Т.А. Современные представления о значении нормальной микрофлоры тела в норме и патологии / Т.А Насонова, В.Н. Мальцев // Успехи современ. биологии. – 1983. – Т. 96. – С. 139–150.
62. Настанова до застосування Лактокасу: розглянута та схвалена вченою радою ДНДКІВПКД (протокол № 2 від 12.02.2013 р.). – Затверджено Головою Державного департаменту ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України 04.03.03 № 15-14/130. – К., 2013. – 6 с.
63. Николаева Т.Е. Роль цитокинов в модуляции иммунореактивности организма бактериями рода *Lactobacillus* / Т.Е. Николаева, В.В. Зорина, В.М. Бондаренко // ЖМЭИ. – 2004. – № 6. – С.101–106.

64. Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения / Н.А. Ушакова, Р.В. Некрасов, В. Г. Правдин [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 1. – С. 184–192.
65. Оптимізація умов проведення ізотермічної ампліфікації нуклеїнових кислот вірусу пташиного грипу H5N1 / В.О. Постоєнко, Б.В. Сорочинський, М.А. Сапачова [та ін.] // *Наук.-техн. бюл. ІБТ НААН і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок*. – 2013. – Вип. 14. – № 3–4. – С. 325 – 330.
66. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии / В.Н. Орехович. – М.: Медицина 1977. – 391 с.
67. Отримання якісної і безпечної продукції птахівництва / [Т.В. Вершняк, Т.І. Фотіна, Т.В. Гурова, І.В. Гапонов] // *Вісник Сумськ. нац. аграр. ун-ту*. – 2011. – Вип. 2. – С. 126–128. – («Серія Вет медицина»).
68. Панин А.Н. Пробиотики неотъемлемый компонент рационального кормления животных / А.Н. Панин, Н.И. Малик // *Ветеринария*. – 2006. – № 7. – С. 19–22.
69. Перспективи використання пробіотичних мікроорганізмів в функціональних продуктах харчування та медицині/С. О. Старовойтова, О. В. Карпов // *Харчова промисловість*. - 2015. - № 18. - С. 76-80.
70. Папіломовірусна інфекція та система інтерферону / [Л.М. Лазаренко, М.Я. Співак, О.М. Михайленко, Г.Т. Сухих]. – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 288 с.
71. Поиск штаммов бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, перспективных для создания пробиотиков / [С.А. Старовойтова, Л.Н. Лазаренко, Л.В. Авдеева и др.] // *Науковий вісник Ужгород. нац. уні-ту*. – 2009. – Вип. 26. – С. 216–219. – Серія «Біологія».
72. Поліщук А.А. Сучасні кормові добавки в годівлі тварин та птиці/ А. А. Поліщук, Т.П. Білавкіна // *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. –2010.–№2.– С. 63-66.
73. Порівняльна оцінка деяких пробіотичних кормових добавок, зареєстрованих в Україні / [Ю. М. Косенко, В. О. Лук'янчук, І. М. Кушнір

- та ін.] // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добавок. – 2008. – Вип. 9, № 4. – С. 309–314.
74. Потапнев М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами / М.П. Потапнев // Иммунология. – 2002. – № 4.– С. 237–243.
75. Пробиотики: можливість застосування при гіперхолестеринемії / С.М. Мосійчук, М.Б.Хоменко, Т.С.Михайлова [та ін.] // Український медичний часопис. – 2006. – № 2 (52). – С. 10–23.
76. Пробиотичні властивості промислових штамів лактобацил та біфідобактерій / Н.К. Коваленко, О.П. Ленінська, О.А. Полтавська. [та ін.] // Мікробіологічний журнал. – 2010. – Т. 72, № 1. – С. 9–17.
77. Пробифід: Технічні умови України (ТУ У) 10.9–2960512097-001:2013. ДКПП 10.91. / О.А. Демченко, М.Я. Співак, Л.М. Лазаренко, Н.О. Тимошок, О.М. Мельниченко, В.С. Бітюцький, В.М. Зоценко, Л.П. Бабенко, В.В. Мокрозуб, В.П. Музика, Д.Д. Маляр, Ю.О. Мельниченко.
78. Профілактична дія пробиотичних штамів *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB на стресіндуковані ураження в слизовій оболонці шлунка щурів / М.Я. Співак, Л.М. Лазаренко, Т.М. Фалалєєва [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2013. – Т 59, № 2. – С. 23–31.
79. Птиця сільськогосподарська для забою: ДСТУ 3136-95. – [Чинний від. 01.01. 1997 – 01–01]. – К.: Держстандарт України, 1997. – 23с. (Нац. стандарт Укр.)
80. Решетніченко О. Пробиотики в годівлі тварин / О. Решетніченко, Л. Орлов, В. Крюков // Тваринництво України. – 2012. – № 5. – С. 25–29.
81. Семен І. С. Перспективи застосування пробиотиків у птахівництві / І. С. Семен, І. Я. Коцюмбас, І. М. Кушнір // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добавок. – 2006. – Вип. 7. – № 1–2. – С. 24–30.
82. Сидоренко С. В. Инфекционный процесс как «диалог» между хозяином и паразитом / С. В. Сидоренко // КМАХ. – 2001. – Т. 3, № 4. – С. 301–315.

83. Современные методы диагностики вирусных респираторных инфекций и их терапии с использованием препаратов интерферона и его индукторов. Метод. Рекомендации: [Н.С. Дяченко, Н.Я. Спивак, Л.А. Тарасишин и др.] – К., 1994. — 18 с.
84. Современные методы диагностики вирусных респираторных инфекций и их терапии с использованием препаратов интерферона метод. рекомендации / под. ред. А.Ф. Модзолевского, Н.С. Дяченко, Н.Я. Спивака. – К., 1994. – 18 с.
85. Соколовский В.В. Тиол-дисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма. – СПб.: МАПО, 1996. – 33 с.
86. Спивак Н.Я. Интерферон и система мононуклеарных фагоцитов / Н.Я. Спивак, Л.Н. Лазаренко, О.Н. Михайленко. – К.: Фитосоциоцентр, 2002. – 164 с.
87. Спивак Н.Я. Сепсис: иммунология и иммунокоррекция / Н.Я. Спивак, С.М. Белоцкий, В.А. Карлов. – К.: Фитосоциоцентр, 2007. – 304 с.
88. Сравнительный анализ методов определения холестерина в пищевых продуктах / Г.Г. Обухова, В.И. Асаева, Е.Н. Сазонова [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал. – 2004. – № 1. – С. 32–34.
89. Стандартизація процедури ідентифікації мікроорганізмів виду *Lactobacillus acidophilus* / Л.І. Акименко, В.О. Ушкалов, В.О. Постоєнко [та ін.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2014. – № 24. – С. 17–21.
90. Стегній Б. Т. Застосування пробіотиків у тваринництві / Б. Т. Стегній, С. О. Гужвинська // Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 5. – С. 39–41.
91. Стояновський В. Г. Склад мікрофлори тонких кишок бройлерів та способи його корекції у критичні періоди росту і розвитку / В. Г. Стояновський, І. А. Коломієць, О.І. Камрацька // Ветеринарія. – 2012. – № 6 (115). – С. 6–9.
92. Стояновський В.Г. Пробиотики та імунна система / В.Г.Стояновський // Ветеринарія. – 2011. – № 4 (101). – С. 21–25
93. Судаков Н.Н. Пробиотики вместо антибиотиков / Н.Н. Судаков, Б.В. Шумилов // Агропресс. – 2008. – № 6. – С. 46–47.

94. Тараканов Б.В. Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы / Б.В. Тараканов. – Боровск: ВНИИФБиП с.-х. животных, 1998. – 145 с.
95. Тимошко М.А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных. – Кишинев: Штиинца, 1990. – 190 с.
96. Фармакологическое обоснование применения пробиотика «Промомикс С» / А.А. Ширина, А.И. Петенко, Ю.А. Лысенко [и др.] // Птицеводство. – 2013. – № 9. – С. 35–39.
97. Фізіологічний стан організму курчат-бройлерів у критичні вікові періоди при застосуванні імунокоригуючих препаратів на тлі вакцинації / [В.Г. Стояновський, І.А. Коломієць, О.І. Камрацька, В.А. Колотницький] // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – 2012. – Т. 14, № 3 (53). – С. 236–239.
98. Фримеля Г. Иммунологические методы / Г. Фримеля, А. Тарасова. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.
99. Хавкин А.И. Микробиоценоз кишечника и иммунитет / А.И. Хавкин // Рос. мед. журнал. – 2003. – Т. 11, № 3. – С. 122–126.
100. Хижняк О.С. Біотехнологічні аспекти отримання комплексного препарату, який містить різні штами пробіотичних культур / О.С. Хижняк, Ю.М. Краснопольський // Вісник НТУ «ХП». – Харків: НТУ «ХП», 2013. – № 4 (978). – С. 113–118. – (Серія: «Нові рішення в сучасних технологіях»).
101. Хижняк О.С. Біотехнологічні аспекти створення препаратів на основі пробіотиків / О.С. Хижняк, Ю.М. Краснопольський // Вісник НТУ «ХП». – Харків: НТУ «ХП», 2012. – № 44 (950). – С. 72–78. – (Серія «Нові рішення в сучасних технологіях»).
102. Холестеразная активность новых штаммов лакто- и бифидобактерий *in vitro* / [С.А Старовойтова Л.Н. Лазаренко, Л.Н. Шинкаренко, Н.Я. Спивак] // Науковий вісник Ужгород. нац. ун-ту. – 2010. – Вип. 27. – С. 212–214. – Серія «Біологія»
103. Христич Т. Н. Микробиоценоз кишечника: механизмы развития, клиника дисбиоза и возможная коррекция его нарушений / Т. Н. Христич // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – № 1 (51). – С. 86–91.

104. Ширококов В.П. Микробная экология человека / В.П. Ширококов, Д.С. Янковский, Г.С. Дымент. – К.: ООО «Червона рута-Турс», – 2010. – 340 с.
105. Шурмакевич Л.Р. Видовий склад мікрофлори кишечнику бройлерів при впоюванні високочистого натрію гіпохлориту (ВНГХ) / Л.Р. Шурмакевич, В.Г. Стояновський // Науковий вісник ЛНУВМ та БТ імені С.З.Гжицького. – 2009. – Т.11, № 2 (41). – Ч. 2. – С. 342–344.
106. Эффективность применения антибактериальных препаратов для санации спермы быков / [В.П. Музыка, И.Е. Атаманюк, И.М. Кушнир и др.] // Материалы V междунар. съезда вет. фармакологов и токсикологов [“Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии”], (Витебск, 2015 г.). – Витебск: ВГАВМ, 2015. – С. 304–308.
107. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии / А.А. Ярилин // Иммунология. – 1997. – № 5. – С.7–14.
108. Abdel-Raheem M. The effect of single or combined dietary supplementation of mannan oligosaccharide and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers / M. Abdel-Raheem, M.S. Abd-Allah // Int. J. Poult. Sci. – 2011. – № 10(11). – P. 854–862.
109. Ahmad I. Effect of probiotics on broilers performance / I. Ahmad // J. Poult. Sci. – 2006. – № 5 (6). – P. 593–597.
110. Akira S. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity / S. Akira, K. Takeda, T. Kaisho // Nat. Immunol. – 2001. – Vol. 2. – P. 675–680.
111. Albenberg L. G. Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease / L.G. Albenberg, G.D. Wu // Gastroenterology. – 2014. – Vol. 146, № 6. – P. 1564–1572.
112. Alkhalf A. Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens / A. Alkhalf, M. Alhag, I. Al-Homidan // Saudi J. Bio. Sci. – 2010. – № 17 (3). – P. 219–225.

113. Alloui N. Effect of probiotic feed additives on broiler chickens health and performance / N. Alloui, S. Chafai, M.N. Alloui // *Journal of Animal and Feed Research*. – 2011. – Vol. 2 (1). – P. 104–107.
114. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field / N. Saad, C. Delattre, M. Urdaci [et al.] // *LWT-Food Sci Technol*. – 2013. – № 50. – P. 1–16.
115. Anadon A. Probiotics for animal nutrition: regulation and safety assessment. In: Perez Guerra N, Pastrana Castro L, eds. *Probiotics: production, evaluation and uses in animal feed* / A. Anadon, M.R. Martinez-Larranaga, V. Caballero // *Kerela: Res. Signpost*, 2010. – P. 1–14
116. Angel R. Performance of broiler chickens fed diets supplemented with a Direct-Fed Microbial / R. Angel, R.A. Dalloul, J. Doerr // *Poult. Sci*. – 2005. – Vol. 84. – P. 1222–1231.
117. Apata D. F. Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus* / D. F. Apata // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2008. – Vol. 88. – P. 1253–1258.
118. Aziz Mousavi SMA. Effect of different levels of synbiotics on carcass characteristics of broiler / Aziz Mousavi SMA, A.R. Seidavi, M. Dadashbeiki // *Res. Opin. Anim. Vet. Sci*. – 2012. – № 2 (3). – P. 161–165.
119. Bordello S. P. Bacteria and gastrointestinal secretion and motility. *Scand. J. Gastroenterology*. 1986, N 93, P. 342–348.
120. Brashears M.M. Bile salt deconjugation and cholesterol from media by *Lactobacillus casei* / M.M. Brashears, S.E. Gilliland, L.M. Buck // *J. Dairy Sci*. – 1998. – Vol. 81(8). – P. 2103–2110.
121. Bushman F. D. Diet, gut enterotypes and health: is there a link / F.D. Bushman, J.D. Lewis, G.D. Wu // *Nestle Nutr. Inst. Workshop Ser*. – 2013. – Vol. 77. – P. 65–73.
122. Carlo S. Toll-like receptor-2 enhances ZO-1-associated intestinal epithelial barrier integrity via protein kinase / S. Carlo, G. Gerken, O.K. Podolsk // *Gastroenterology*. – 2004. – Vol. 127. – P. 224–238.

123. Characterization of probiotic strains: An application as feed additives in poultry against *Campylobacter jejuni*. / C. Santini, L. Baffoni, F. Gaggia [et al.] // *International Journal of Food Microbiology*. – 2010. – Vol. 141. – P. 98–108.
124. Christensen H. Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells / H. Christensen, H. Frokiar, J. Pestka // *J. Immun.* – 2002. – Vol. 168. – P. 171–178.
125. Clemens E. T. Sites of organic acid production and pattern of digesta movement in the gastrointestinal tract of. *Nutr.* 1975, N 105, P. 1341–1350.
126. Cox C.M. Immunomodulatory role of probiotics in poultry and potential in ovo application / C.M. Cox, R.A. Dalloul // *Benef. Microbes*. – 2015. – № 6 (1). – P. 45–52.
127. Cross M.L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens / M.L. Cross // *FEMS Immunol. Medicine Microbiol.* – 2002. – Vol. 34. – P. 245–253.
128. Cysteine/cystine couple is a newly recognized node in the circuitry for biologic redox signaling and control / J.P. Jones, Y.M. Go, C.L. Anderson [et al.] // *FASEB J.* – 2004. – Vol. 18, № 11. – P. 1246–1248.
129. Dambekodi P.C. Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Bifidobacterium longum* / P.C. Dambekodi, S.E. Gilliland // *J. Dairy Sci.* – 1998. – Vol. 81 (7). – P.2103–2110.
130. Datta J. Effect of feeding probiotic (bio-top) with or without an antibiotic growth promoter on broiler performance / J. Datta // *Journal of animal Physiology and Animal Nutrition*. – 2013. – Vol. 95(4) – P. 424–433.
131. Dibaji S.M. Effect of a synbiotic on the intestinal microflora of chickens / S.M. Dibaji, A.R. Seidavi, L. Asadpour // *J. Appl. Poult. Res.* – 2014. – № 23(1). – P. 1–6.
132. Dibaji S.M. Effect of dietary inclusion of the synbiotic Biomin IMBO on broilers' some blood metabolites / S.M. Dibaji, A.R. Seidavi, L. Asadpour // *Res. Opin. Anim. Vet. Sci.* – 2012. – № 2 (1). – P. 10–13.
133. Dietary supplementation of *Lactobacillus sporogenes* on performance and serum biochemico-lipid profile of broiler chickens / [K.P. Arun, V.R. Savaram,

Mantena, R.S. Sita] // The Journal of Poultry Science. – 2006. – Vol. 43. – P. 235–240.

134. Dietary supplementation of probiotics and synbiotics on intestinal microbial populations and gut morphology of turkey poult / [A.F. Agboola, I. Aroniyo, S.A. Suberu, W.T. Adeyemi] // Afr. J. Livest. Ext. – 2014. – Vol. 14. – P. 13–20.

135. Dizaji B.R. Effects of dietary supplementations of prebiotics, probiotics, synbiotics and acidifiers on growth performance and organs weights of broiler chicken / B.R. Dizaji, S. Hejazi, A. Zakeri // Eur. J. Exp. Biol. – 2012. – Vol. 2 (6). – P. 2125–2129.

136. Duca F. A. Gut microbiota, nutrient sensing and energy balance / F.A. Duca, T.K. Lam // Diabetes Obes. Metab. – 2014. – Vol. 16 – P. 68–76.

137. Edwards C. A. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives // Brit. J. Nutr. – 2002. – Vol. 88. – P. 11–18.

138. Effect of a synbiotic (Biomin®IMBO) on growth performance traits of broiler chickens / Aziz Mousavi SMA, A.R. Seidavi [et al.] // Eur. Poult. Sci. (Archiv Fur Geflugelkunde). – 2015. – № 79. – P. 1–15.

139. Effect of bioplus 2B and protoxin probiotics supplementation on growth performance, small intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens / [R. Fallah, M. Saghafi, H. Rezaei, R. Parvar] // Br. J. Poult. Sci. – 2013. – № 2 (2). – P. 11–15.

140. Effect of combined supplementation of probiotic and yeast on growth, carcass characteristics and economics of production in broiler chickens / [B.K. Swain, P.K. Naik, E.B. Chakurkar, N.P. Singh] // Anim. Nutr. Feed Technol. – 2012. – Vol. 12. – P. 103–110.

141. Effect of dietary inclusion level of a multispecies probiotic on broiler performance and two biomarkers of their caecal ecology / K.C. Mountzouris, I. Palamidi, P. Tsirtsikos [et al.] // Anim. Prod. Sci. – 2014. – Vol. 55 (4). – P. 484–493.

142. Effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers / J. Asian, Med. Biol. Res. R. Mutus, N. Kocabagli [et al.] // Poult. Sci. – 2015. – Vol. 85. – P. 1621–1625.

143. Effect of dietary probiotic, *Bacillus coagulans*, on growth performance, chemical composition, and meat quality of Guangxi yellow chicken / [X. Zhou, Y. Wang, Q. Gu, W. Li] // *Poult Sci.* – 2010. – Vol. 89. – P. 588–593.
144. Effect of dietary supplementation of multi-strain probiotic on broiler growth performance / [M.I. Anjum, A.G. Khan, A. Azim, M. Afzal] // *Pakistan Vet. J.* – 2005. – Vol. 25(1). – P. 25–29.
145. Effects of a multi-strain probiotic (PrimaLac) on performance and antibody responses to Newcastle disease virus and infectious bursal disease virus vaccination in broiler chickens / [A. Talebi, B. Amirzadeh, B. Mokhtari, H. Gahri] // Abingdon, UK, *Avian Pathology.* – 2008. – Vol. 3 (5). – P. 509–512.
- ^{146.} Effect of probiotic strains of lacto- and bifidobacteria on the activity of macrophages and other parameters of immunity in cases of staphylococcosis / V.V Mokrozub, L.M. Lazarenko, L.P. Babenko [et al.] // *Microb. G.* – 2012. – Vol. 74, № 6. – P. 78–86.
147. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilisation and serum cholesterol in broilers / [B. Mohan, R. Kadirvel, A. Natarajan, M. Bhaskaran] // *Br. Poult. Sci.* – 2007. – 37 (2). – P. 395–401.
148. Effect of Two Probiotics and Bioflavonoids Supplementation to the Broilers Diet and Drinking Water on the Growth Performance and Hepatic Antioxidant Parameters / H.A. Abdel-Rahman, S.M. Shawky, H. Ouda [et al.] // *Global Veterinaria.* – 2013. – № 10 (6). – P. 734–741.
149. Effectiveness of probiotics on the duration of illness in healthy children and adults who develop common acute respiratory infectious conditions: a systematic review and meta-analysis / S. King, J. Glanville, M.E. Sanders [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2014. – Vol. 112, № 1. – P. 41–54.
150. Effects of citric acid, antibiotic growth promoter and probiotics on growth performance of broilers / Md. A. Asgar, Md. Rabiul Haque, Md. Shafiqul Islam Khan [et al.] // *Wayamba Journal of Animal Science.* – 2012. – Vol. 578. – P. 729–735.
151. Effects of dietary inclusion of cassava yeast as probiotic source on growth performance, small intestine (ileum) morphology and carcass characteristic in

broilers / S. Chumpawadee, O. Chinrasri, Th. Somchan [et al.] // International Journal of Poultry Science. – 2008. – № 7 (3). – P. 246–250.

152. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and histomorphology of broiler chickens / [W.A. Awad, K. Ghareeb, S. Abdel-Raheem, J. Böhm] // Poult Sci. – 2009. – Vol. 88 (1). – P. 49–56.

153. Effects of feeding metabolites and acidifier on growth performance, faecal characteristics and micro flora in broiler chickens / M. Rosyidah, T.C. Loh, H. Foo [et al.] // J Anim Vet Adv. – 2011. – Vol. 10. – P. 2758–2764.

154. Effects of flavomycin and probiotic supplementation to diets containing different sources of fat on growth performance, intestinal morphology, apparent metabolizable energy, and fat digestibility in broiler chickens / [S. D. Sharifi, A. Dibamehr, H. Lotfollahian, B. Baurhoo] // Poultry Science. – 2012. – Vol. 91. – P. 918–927.

155. Effects of *Lactobacillus* cultures on growth performance, abdominal fat desposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens / [R. Kalavathy, N. Abdullah, S. Jalaludin, Y.W. Ho] // Brit. Poult. Sci. – 2003. – Vol. 44. – P. 139–144.

156. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins and cecal microflora composition / K. C. Mountzouris, P. Tsitrsikos, I. Palamidi [et al.] // Poultry Science. – 2010. – Vol. 89. – P. 58–67.

157. Effects of Probiotics on Live Weight and Hematobiochemical Parameters in Broiler / Md. Mahbubul Haque, Md. Matiar Rahman Howlader, Shahana Begum [et al.] // International Journal of Scientific Research in Agricultural Sciences. – 2015. – № 2 (6). – P. 126–132.

158. Ehsani M. Performance of broilers fed barley-based diets supplemented by two sources of commercial probiotics / M. Ehsani, V. Baratian, M. Torki // World Applied Science Journal. – 2011. – № 14. – P. 9–14.

159. Evaluation of immunomodulatory effects of nisin-containing diets on mice / M. A. De Pablo, J. J. Gafortio, A. Gallego [et al.] // FEMS Immunol. Med Microbiol. – 1999. – V. 24. – P. 35–42.

160. Furuse M. Gut microflora modify fatty acid composition in liver and egg yolk lipids of laying Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) / M. Furuse, A. Murai, J. Okumura // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1992. – V. 103 (3). P. 569-571.
161. Gaggia F. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production / F. Gaggia, P. Mattarelli, B. Biavati // *Int. J. Food Microbiol.* – 2010. – Vol. 141(1). – P. 15–28.
162. Getachew T. A Review on Effects of Probiotic Supplementation in Poultry Performance and Cholesterol Levels of Egg and Meat / T. Getachew // *J. World Poult. Res.* – 2016. – № 6 (1). – P. 31–36.
163. Gibson G. R. Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria / G.R.Gibson, X.Wang // *J.Appl. Bacteriol.* – 1994. – Vol. 77(4). – P. 412–420.
164. Glaskovich A.A. The dynamics of the natural resistance of broiler chickens supplemented probiotic "Vetlactoflorum" / A.A. Glaskovich, E.A. Kapitonova, A. Pritychenko // *Scientific notes: Sci. and prac.J. Vitebsk State Academy of Vet.Med.* – 2012. – Vol. 48(1). – P. 56–61.
165. Gokce I. Production of an E. coli toxin protein; colicin A in E. coli using an inducible system / I. Gokce, J. H. Lakey // *Turk. J. Chem.* – 2003. – Vol. 27. – P. 323–332.
166. Hasan S. Beneficial effects of probiotic on growth performance and hemato-biochemical parameters in broilers during heat stress / S. Hasan, M. M. Hossain, J. Alam // *International Journal of Innovation and Applied Studies.* – 2015. – Vol. 10, № 1. – P. 244–249.
167. Hosseini S.A. Effects of Ground Thyme and Probiotic Supplements in Diets on Broiler Performance, Blood Biochemistry and Immunological Response to Sheep Red Blood Cells / Seyed A. Hosseini, Amir Meimandipour, Fatemeh Alami [et al.] // *Ital J Anim Sci.* – 2013. – Vol.12. – P. 116–120.
168. Huyghebaert G. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers / Huyghebaert G., Ducatelle R., Van Immerseel F. // *The Veterinary Journal.* – 2011. – Vol. 187. – P. 182–188.

169. Huzhivinska S.O. The use of probiotics in poultry / S.O. Huzhivinska // Poultry – Kharkiv. – 2003. – Vol. 53. – P. 552–556.
170. Immimomodulation of mucosal immune response by probiotics / O. Perdigon, C. Maldonado, Galdeano[et al.] // Curr. Trends Immunol. – 2005. – № 6. – P. 69–85.
171. Kabir S. M. L. Effect of probiotics on broiler meat quality / S. M. L. Kabir // African Journal of Biotechnology. – 2009. – Vol. 8 (15). – P. 3623–3627.
172. Kabir S. The role of probiotics in the poultry industry / S. Kabir // Int J Mol Sci. – 2009. – Vol. 10. – P. 3531–3546.
173. Kamdar K. Toll-like receptor signaling and regulation of intestinal immunity. Virulence / K. Kamdar, V. Nguyen, R. DePaolo – 2013. – Vol. 4, № 3. – P. 207–212.
174. Karimi Kivi R. Effects of four probiotics on the gastrointestinal microflora in ostrich chickens / R. Karimi Kivi, M. Dadashbeiki, A.R. Seidavi // J. Pure. Appl. Microbiol. – 2014. – № 8 (1). – P. 429–434.
175. Karimi Kivi R. Growth, body characteristics and blood parameters of ostrich chickens receiving commercial probiotics / R. K. Kivi, M. Dadashbeiki, A.R. Seidavi // Span. J. Agric. Res. – 2015. – № 13(1). – P. 1–11.
176. Khaksefidi A. Effect of probiotic inclusion in the diet of broiler chickens on performance, feed efficiency and carcass quality / A. Khaksefidi, S. Rahimi // Asian- Australasian J Anim Sci. – 2005. – Vol. 18. – P. 1153–1156.
177. Khani M.M. Effect of supplemented *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* diet or water on serum cholesterol and triglyceride and performance of broilers 1st Mediterranean Summit of WPSA / M.M. Khani, S.M. Hosseini // Thessaloniki. Book of proceeding. – 2008. – P. 740–744.
178. Klaenhammer T. R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria / T. R. Klaenhammer // FEMS Microbiol Rev. – 1993. – N 12. – P. 39-86.
179. Kral M. Application of probiotics in poultry production / M. Kral, M. Angelovicova, L. Mrazova // Anim. Sci. Biotechnol. – 2012. – Vol. 45(1). – P. 55–57.
180. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* influence on the indices of immune influence on the indices of immune response of the organism showed on

- experimental model / M. Ya. Spivak, V. S. Pidgorsky, L. M. Lazarenko [et al.] // *Microbiology @ Biotechnology*. – 2009. – № 1 (5). – P. 39–46.
181. Lahtinen S.J. Specific Bifidobacterium strains isolated from elderly subjects inhibit growth of *Staphylococcus aureus* / S.J. Lahtinen, L. Jalonen, A.C. Ouwehand, S.J. Salminen // *Int J. Food Microbiol.* – 2007. – Vol. 117. – N. 1. – P. 125–128.
182. Li A.L. Effect of lactobacilli on Th1/Th2 cells balance in primary lymphocytes / A.L. Li, D.X. Ma, X.C. Meng // *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. – 2011. – Vol. 27, № 4. – P. 389–391.
183. Lopez P. Distinct Bifidobacterium strains drive different immune responses in vitro / P. Lopez, M. Gueimonde // *Int. J. Food Microbiol.* – 2010. – Vol. 138 (1–2). – P. 157–165.
184. Lutful Kabir S.M. The role of probiotics in th poultry industry / S.M. Lutful Kabir // *Int. J.Mol.Sci.* – 2009. – Vol. 10 (8). – P. 3531–3546.
185. Mansoub N.H. Effect of Probiotic Bacteria Utilization on Serum Cholesterol and Triglycerides Contents and Performance of Broiler Chickens / Mansoub N.H. // *Global Veterinaria*. – 2010. – № 5 (3). – P. 184–186.
186. Mansour Mayahi. Effects of dietary probiotic supplementation on promoting performance and serum cholesterol and triglyceride levels in broiler chicks / Mansour Mayahi, Mohammad Razi-Jalali and Rezvan Kiani // *African Journal of Biotechnology*. – 2010. – Vol. 9 (43). – P. 7383–7387.
187. Martinez R. C. R. In vitro evaluation of gastrointestinal survival of *Lactobacillus amylovorus* DSM 16698 alone and combined with galactooligosaccharides, milk and/or *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis Bb-12* / R. C. R. Martinez // *Int. J. Food Microbiol.* – 2011. – Vol. 149. – P. 152–158.
188. Mayahi M. Effects of dietary probiotic supplementation on promoting performance and serum cholesterol and triglyceride levels in broiler chicks / M. Mayahi, M. Razi-Jalali, R. Kiani // *Afr. J. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 9 (43). – P. 7383–7387.

189. Merk K. Lactobacilli - bacteria-host interactions with special regard to the urogenital tract II Intern / K. Merk, C. Borelli, H. Korting // J. of Med. Microbiol. – 2005. – Vol. 295.– P. 9–18.
190. Navid Hosseini Mansoub. Comparison of Effects of Using Thyme and Probiotic on Performance and Serum Composition of Broiler Chickens / Navid Hosseini Mansoub // Advances in Environmental Biology. – 2011. – Vol. 5 (7). – P. 2012–2015.
191. New aspects the regulation of immune response through balance Th1/Th2 cytokines / N.O Tymoshok, Y.A. Melnichenko, M.Ya. Spivak [et al.] // EPMA-World Congress 2013 (20–21 September 2013, Brussels, Belgium) // EPMA Journal. – 2014. – Vol. 5. – P. 134.
192. Noh D.O. Incorporation of cholesterol info the cellular of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 / D.O. Noh, S.H. Kim, S.E. Gilliland // J.Dairy Sci. – 2003. – Vol. 86(12). – P. 3107–3113.
193. Ovosibo Growth, haematology and serum biochemistry of broilers fed probiotics based diets / Ovosibo, A. O. Odetola, O.M. Odunsi [et al.] // Federal College of Animal Health and Production Technology, P. M. B. 5029, Moor Plantation, Ibadan, Oyo State, Nigeria. – 2013. – Vol. 8 (41). – P. 5076–5081(HA3BA)
194. Panda A.K. Dietary supplementation of lactobacillus sporogenes on performance and serum biochemistry Lipid profile of broiler chickens /A.K. Panda, L.N. Raju, S.R. Sharma // The Journal of Poultry Science. – 2006. – № 43. – P. 235–240.
195. Pavlova I. Effect of probiotics on doxycycline disposition in gastrointestinal tract of poultry / I. Pavlova // Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. – 2015. – Vol. 18, № 3. – P. 248–257.
196. Perdigon G. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system / G. Perdigon, H. Fuller, R. Ray // Curr, J. intest. Microbiol. – 2001. – № 2. – P. 27–42.
197. Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth

promoter / [M. Toghyani, M. Tohidi, A.A. Gheisari, S.A. Tabeidian] // African Journal of Biotechnology. – 2010. – Vol. 9 (40). –P. 6819–6825.

198. Physico-chemical properties of breast muscle in broiler chickens fed probiotics, antibiotics or antibiotic–probiotic mix / Nazim Rasul Abdulla, Amirah Nabilah Mohd Zamri, Azad Behnan Sabow [et al.] // Journal of applied animal research. – 2015.– P. 1–7.

199. Prevalence of antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from the faeces of broiler chicken in Malaysia / N. Shazali, H.L. Foo, T.C. Loh [et al.]// Gut Pathog. – 2014. – № 6. – P. 1–7.

200. Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria / C. Maldonado Galdeano, de Moreno de LeBlanc A., G. Perdigon [et al.] // Clinical and Vaccine Immunology. – 2007. – Vol. 14, № 5. – P. 485–492.

201. Probiotic inclusion level modulates intestinal mucin composition and mucosal morphology in broilers / P. Tsirtsikos, K. Fegeros, C. Balaskas [et al.] // Poult. Sci. – 2012. – Vol. 91 (8). – P. 1860–1868.

202. Regulation of Intestinal Immune Responses through TLR Activation: Implications for Pro- and Prebiotics / S. de Kivit, M.C. Tobin, C.B. Forsyth [et al.] // Front. Immunol. – 2014. – Vol. 5. – P. 61–67.

203. Sun K. Lactobacillus isolates from healthy volunteers exert immunomodulatory effects on activated peripheral blood mononuclear cells / K. Sun, C. Xie, D. Xu, X. Yang, J. Tang, X. Ji // Journal of biomedical research. – 2013. – Vol. 27. – N. 2. – P. 116-126.

204. Shanmugasundaram R. “Effect of killed whole yeast cell prebiotic supplementation on broiler performance and intestinal immune cell parameters.”/ R. Shanmugasundaram, R. K. Selvaraj // Poultry Science. – 2012. – Vol. 91, № 1. – P. 107–111.

205. Shanmugasundaram R. Effect of yeast cell product (CitriStim) supplementation on broiler performance and intestinal immune cell parameters during an experimental coccidial infection / R. Shanmugasundaram, M. Sifri, R. K. Selvaraj // Poultry Science. – 2013. – Vol. 92, №. 2. – P. 358–363.

206. Shevchenko A.I. Brief characteristic of blood morphology changes caused in broiler turkeys by dietary probiotics vetom 1.1, se-containing sel-plex and

their combined application /A.I. Shevchenko, S.A. Shevchenko // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. – 2015. – Vol. 50, № 6. – P. 853–858.

207. Sirslun S. Characterization of non human origin probiotic *Lactobacillus plantarum* with cholesterol-lowering property / S. Sirslun, C. Chaiyasut, D. Kantachote // African Journal of Microbiology Research. – 2010. – Vol. 4 (10). – P. 3416–3422.

208. Skvortsov L. Use probyotykov in growing broiler chickens / L. Skvortsov // Reports of the Russian Academy of Agricultural Sciences. – 2010. – № 3 – P. 38–40.

209. Spivak M.Ya. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* influence the indices of immune response of the organism showed on experimental model / M.Ya. Spivak, V.S. Pidgorskyi, L.M. Lazarenko // Мікробіологія та біотехнологія. – 2009. – Т. 1. – № 5. – С. 39–46.

210. Starovoitova S. Cholesteraze activity of new lacto- and bifidobacteria stains *in vitro* / S.A. Starovoitova // Науковий вісник Ужгород. нац. уні-ту. – 2010. – Вип. 27. – С. 1–4. – (Серія «Біологія»).

211. Starovoitova S.A. Cholesterol-lowering activity of lactic acid bacteria probiotic strains *in vivo* / S.A. Starovoitova // Microbiologichny zhurnal. – 2012. – Vol. 74 (3) – P. 78–85.

212. Stegnyy B.T. Probiotics in tvarynytstvi: some aspects design and application / B.T. Stegnyy, T.Y. Truskova // Materials Intern. Scientific and practical. Conf. ["Probiotics - НН1stolittya. Biology. Medicine. Practice."]. – 2012. – № 23. – P. 58–63.

213. Stringfellow K. Evaluation of probiotic administration on the immune response of coccidiosis-vaccinated broilers / K. Stringfellow, D. Caldwell, J. Lee // Poultry Science. – 2011. – Vol. 90, № 8. – P.1652–1658.

214. Stropfova V. Effect of Bacteriocin-Like Substance Produced by *Enterococcus faecium* EF55 on the Composition of Avian Gastrointestinal Microflora / V. Stropfova, A. Laukova, D. Mudronova // Acta Vet. BRNO. – 2003. – Vol. 72. – P. 559–564.

215. Study the effect of using probiotic (vetlactoflorum) on some of biochemical and immunological parameters of broiler chickens / [Aamer Alaqaby, R.A. Glaskovich, A.A. Kapitonova, E.A. Losev] // *Bas. J. Vet. Res.* – 2014. – Vol.1, № 1. – P. 58–62.
216. Synergistic effects of feed additives on performance of broilers / C.P. Munj, A.S. Ranade, D.N. Desai [et al.] // *Indian J. Poult. Sci.* – 2010. – Vol. 45 (3). – P. 292–296.
217. Tabidi M.H. Effects of Probiotic and Antibiotic on Performance and Growth Attributes of Broiler Chicks / M.H. Tabidi, A.M Mukhtar and Hassan Ibrahim Mohammed // *Global Journal of Medicinal Plant Research.* – 2013. – № 1 (1). – P. 136–142.
218. The effect of probiotics on growth performance of broilers / Roozbeh Shabani, Mehran Nosrati, Faramin Javandel [et al.] // *Scholars Research Library Annals of Biological Research.* – 2012. – Vol. 3 (12). – P. 5450–5452
219. The effects of Antibiotic growth promoter, probiotic, organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and Tissue of Broilers / Gunal M., Yayli G., Kaya O [et al.] // *Int. J. Poult. Sci.* – 2006. – № 5. – P. 149–155.
220. The probiotic bioplus 2b as an alternative to antibiotics in diets for broiler chickens / J. Sabatkova, I. Kumprecht, P. Zobac [et al.] // *Acta Vet. Brno.* – 2008. – Vol. 77. – P. 569–574.
221. The role of beneficial bacteria wall elasticity in regulating innate immune response / V.V Mokrozub., L.M Lazarenko., Yu.O Melnichenko, M.Ya. Spivak [et al.] // *The EPMA Journal.* – 2015. – Vol. 6(13) – P. 1–15.
222. Van der Waaji D. Colonization resistance of the digestive tract mechanism and clinical consequences / D. Van der Waaji // *Die Nahrung.* – 1987. – Vol. 31. – P. 507–517.
223. Vamanu E. Viability of the *Lactobacillus rhamnosus* IL1 strain in simulated gastrointestinal conditions / E. Vamanu, A. Vamanu // *Int. J. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 6. – P. 732–737.

224. Vila B. Probiotic micro-organisms: 100 years of innovation and efficacy; modes of action / B. Vila, E. Esteve-Garcia, J. Brufau // *World's Poultry Sci. J.* – 2010. – Vol. 66 (3). – P. 369–380.
225. Vinderola C.G. Role of the epithelial cells in the immune effects mediated by gram-positive probiotic bacteria. Involvement of Toll-like receptors / C.G. Vinderola, C. Malar, G. Perdigon // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 2005. – Vol. 12. – P. 1075–1084.
226. Vorontsov A.N. Intensification of production technologies of broilers / A.N. Vorontsov // *Advances in modern poultry industry: research and Innovation: mat. XVI Conf. PO WPSA.* – Sergiev Posad. 2009. – P. 183–184.
227. Weiss G. Lactobacilli and bifidobacteria induce differential interferon- β profiles in dendritic cells / G. Weiss, H.R. Christensen, L.H. Zeuthen, F.K. Vogensen, M. Jakobsen, H. Frøkiær // *Cytokine.* – 2011. – V. 56. – № 2. – P. 520–530.
228. Weng M. The role of gut microbiota in programming the immune phenotype / M. Weng, W.A. Walker // *J. Dev. Orig. Health Dis.* – 2013. – Vol. 4, № 3. – P. 203–214.
229. Wise M. G. Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one-to three-week-old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetablebased diets / M. G. Wise, G. R. Siragusa // *J. Appl. Microbiol.* – 2007. – Vol. 102, № 4. – P. 1138–1149.
230. Zhang Z.F. Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers / Z.F. Zhang, I.H. Kim // *Poultry science.* – 2014. – Vol. 93(2). – P. 364–370.

ДОДАТКИ

ДКПІ 10.91

УКНД 65.120

: ЗАРЕЄСТРОВАНО

ПОГОДЖЕНОЗаступник Голови Державної
ветеринарної та фітосанітарної служби
України

В. В. Башинський

"14" грудня 2012р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Фізична особа-підприємець

О. А. Демченко

" " 2013 р.

ДОБАВКА КОРМОВА "ЛАКТОКАС"

Технічні умови

ТУ У 10.9- 2960512097 -001:2013

(Уведені вперше)

Дата надання чинності 2013

Чинні до

ПОГОДЖЕНОГолова ТК № 132 "Засоби
захисту тварин, корми і кормові
добавки", член-кореспондент
НААН України, доктор
ветеринарних наук, професор

І. Я. Коцюмбас

"10" "12" 2012р.

РОЗРОБЛЕНО

Фізична особа-підприємець

О. А. Демченко

"05" "11" 2012 р.

Доктор біологічних наук,

М. Я. Співак

"05" "11" 2012 р.

Доктор біологічних наук

Л. М. Лазаренко

"05" "11" 2012 р.

Кандидат біологічних наук

Н. О. Тимошок

"05" "11" 2012 р.

Доктор с.-г наук

О. Н. Мельниченко

"05" "11" 2012 р.

Доктор с.-г наук

В. С. Бітюцький

"05" "11" 2012 р.

Продовження на наступному аркуші

Продовження титульного аркуша

Кандидат ветеринарних наук

В. М. Зоценко
"05" 2012 р.

Провідний інженер

Л. П. Бабенко
"05" 2012 р.

Провідний інженер

В. В. Мокрозуб
"05" 2012 р.

Кандидат ветеринарних наук

В. П. Музика
"05" 2012 р.

Мол. науковий співробітник

Д. Д. Маляр
"05" 2012 р.

Мол. науковий співробітник

Ю. О. Мельниченко
"05" 2012 р.

Мол. науковий співробітник

Я. В. Соломонюк
"05" 2012 р.

ДКПІ 10.91

УКНД 65.120
ЗАРЕЄСТРОВАНО**ПОГОДЖЕНО**Заступник Голови Державної
ветеринарної та фітосанітарної служби
УкраїниВ. В. Башинський
"14" грудня 2012р.**ЗАТВЕРДЖУЮ**Фізична особа підприємця
О. А. Демченко
"11" грудня 2013 р.**ДОБАВКА КОРМОВА "ПРОБІФІД"**

Технічні умови

ТУ У 10.9- 2960512097 -002:2013

(Уведені вперше)

Дата надання чинності 2013

Чинні до

ПОГОДЖЕНОГолова ТК № 132 "Засоби
захисту тварин, корми і кормові
добавки", член-кореспондент
НААН України, доктор
ветеринарних наук, професорІ. Я. Коцюмбас
"10" грудня 2012р.**РОЗРОБЛЕНО**

Фізична особа підприємця

О. А. Демченко

"05" грудня 2012 р.

Доктор біологічних наук

М. Я. Співак

"05" грудня 2012 р.

Доктор біологічних наук

Л. М. Лазаренко

"05" грудня 2012 р.

Кандидат біологічних наук

Н. О. Тимошок

"05" грудня 2012 р.

Доктор с.-г наук

Н. Мельниченко

"05" грудня 2012 р.

Доктор с.-г наук

В. С. Бітюцький

"05" грудня 2012 р.



Продовження на наступному аркуші

Кандидат ветеринарних наук

В. М. Зоценко
" 05 " 11 2012 р.

Провідний інженер

Л. П. Бабенко
" 05 " 11 2012 р.

Провідний інженер

В. В. Мокрозуб
" 05 " 11 2012 р.

Канд. с.-г наук

І. М. Кушнір
" 05 " 11 2012 р.

Мол. науковий співробітник

Ю. О. Мельниченко
" 05 " 11 2012 р.

Мол. науковий співробітник

Д. Д. Маляр
" 05 " 11 2012 р.

“Затверджую”



Картка зворотнього зв'язку

Матеріали дисертаційної роботи аспіранта кафедри екології та біотехнології Білоцерківського національного аграрного університету Мельниченко Юлії Олександрівни на тему: «**Біотехнологія одержання пробіотичної добавки та її використання за вирощування курчат-бройлерів**», яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю **03.00.20 – “біотехнологія”** впроваджено у навчальний процес при викладанні курсів “Годівля тварин та технологія кормів”, “Технологія кормів і кормових добавок”, “Біологія продуктивності тварин” та наукових дослідженнях на кафедрі годівлі сільськогосподарських тварин та водних біоресурсів, факультету технології виробництва і переробки продукції тваринництва Вінницького національного аграрного університету.

Матеріали розглянуті та схвалені на засіданні кафедри годівлі сільськогосподарських тварин та водних біоресурсів (протокол № 10 від 15.02 2016 р.)

Декан факультету технології виробництва
і переробки продукції тваринництва,
к. с.-г. н., доцент
Завідувач кафедри годівлі с.-г. тварин
та водних біоресурсів, д. с.-г. н., професор

О. І. Скоромна

А. В. Гуцол



”Затверджую”

Ректор ЛНУВМ та БТ імені
С.З. Гжицького, професор
Стибель В.В.
« » 2016 р.

АКТ

про використання результатів

кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес

Результати дисертаційної роботи асистента кафедри екології та біотехнології Білоцерківського національного аграрного університету Мельниченко Юлії Олександрівни на тему: «Біотехнологія одержання пробіотичної добавки та її використання за вирощування курчат-бройлерів», яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія впроваджено у навчальний процес при викладанні дисциплін: «Біотехнологія біологічно активних речовин», «Загальна біотехнологія» та «Промислова біотехнологія» для освітнього-кваліфікаційного рівня «Бакалавр».

Біотехнологія одержання та використання новітніх пробіотичних і пребіотичних препаратів-імунобіотиків на основі лакто- та біфідобактерій, пошук штамів мікроорганізмів, що мають високу антагоністичну активність відносно патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, а також здатність до колонізації епітелію, що створює в екосистемі сприятливі умови для відновлення індигенної фізіологічної мікрофлори та її активності, аспекти створення препаратів на основі безклітинних компонентів пробіотиків, проведення досліджень з використанням сучасних методів біотехнології викладаються студентам на кафедрі біотехнології та радіології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З. Гжицького.

Завідувач кафедри біотехнології
та радіології д. с.-г. наук, професор

В. І. Буцяк

“ПОРОДЖЕНО”
 Проректор з наукової та
 інноваційної діяльності БНАУ
 проф. Сахнюк В.В.
 2015



“ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Директор ТОВ “Агрокомплекс”
 Нікіфоренко А.А.
 2015



АКТ

виробничої перевірки закінчених науково-дослідних робіт

Ми, що нижче підписались, директор ТОВ “Агрокомплекс” Нікіфоренко А.А., завідувач кафедри неорганічної та аналітичної хімії Білоцерківського національного аграрного університету, професор Бітюцький В.С., асистент кафедри екології та біотехнології Мельниченко Ю.О., склали цей акт про те, що в період з 24. 04. 2015 до 6. 06. 2015 у господарстві ТОВ “Агрокомплекс” м. Біла Церква Київської області було проведено виробничу перевірку щодо використання пробіотичних препаратів Лактокас та Пробіфід у складі комбікорму для курчат-бройлерів.

З цією метою птицю за принципом аналогів було розподілено на дві групи по 350 голів у кожній. Курчат-бройлерів утримували на глибокій підстилці, кожна група у окремій секції. Бройлерам контрольної групи згодовували повнораціонні комбікорми. Птиці дослідної групи згодовували комбікорм з вмістом пробіотичних препаратів Лактокас та Пробіфід в дозі 0,4 та 0,5 г/кг корму. Для проведення досліджень використовували суху форму препаратів Лактокас та Пробіфід – пробіотичні добавки для птиці, до складу яких входять ліофільно висушені штами *Lactobacillus casei* IMB B-7280 та *Bifidobacterium animalis* VKB.

Після закінчення дослідів, який тривав 42 доби, проводили облік продуктивності та визначення впливу комплексу лакто- та біфідобактерій на

збереження курчат-бройлерів (табл.1). Хімічний склад комбікорму, який згодовували курчатам-бройлерам контрольної та дослідних груп, був однаковим і різнився лише за вмістом пробіотичних препаратів відповідно до схеми дослідів.

Таблиця 1.

Ефективність використання комплексу пробіотиків за вирощування курчат-бройлерів

| Показник | Контрольна група | Дослідна група |
|--|------------------|----------------|
| Поголів'я, гол. | 350 | 350 |
| Збереженість курчат-бройлерів за період вирощування, % | 94,9 | 98,6 |
| Передзабійна маса тіла, г | 2264,2±45,14 | 2417,2±38,26 |
| Затрати корму на 1 кг приросту, кг | 2,05 | 1,93 |

Встановлено, що додавання до раціону курчат-бройлерів комплексу пробіотичних препаратів Лактокас та Пробіфід сприяє підвищенню продуктивності, збереженості поголів'я та зменшенню витрат корму на 1 кг приросту.



Висновки

Використання у складі комбікормів курчат-бройлерів комплексу пробіотиків сприяє підвищенню продуктивності птиці на 6,8%.

За використання комплексу пробіотиків підвищується збереженість курчат-бройлерів на 3,7 %, затрати корму на 1 кг приросту живої маси зменшуються на 5,9 %.

Завідувач кафедри неорганічної та аналітичної хімії
Білоцерківського національного аграрного університету,
професор

Асистент кафедри екології та
біотехнології

 В.С. Бітюцький
 Ю.О. Мельниченко

“ПОГОДЖЕНО”
Проректор з наукової та
інноваційної діяльності БНАУ
проф. Сахнюк В.В.
2015 .

“ЗА ПЕРДЖУЮ”
Директор ТОВ “Агрокомплекс”
Нікіфоренко А.А.
2015

АКТ

впровадження результатів наукових досліджень

Якою науково-дослідною установою запропонована розробка для *впровадження*: Білоцерківський національний аграрний університет, НДІ екології та біотехнології, кафедра неорганічної та аналітичної хімії.

Найменування впровадженної розробки: кормова пробіотична добавка комплексу препаратів Лактокас та Пробіфід у кількості 0,4 та 0,5 г/кг повноцінного комбікорму для згодовування курчатам-бройлерам.

Автори наукової роботи: завідувачка кафедри неорганічної та аналітичної хімії Білоцерківського національного аграрного університету доктор с.-г наук, професор Бітюцький В.С., асистент кафедри екології та біотехнології Ю.О. Мельниченко.

Підприємство де здійснюється впровадження: ТОВ “Агрокомплекс” м. Біла Церква, Київської області.

Рік і обсяг впровадження: 2015 р., 350 голів, курчата-бройлери кросу «Кобб-500». Результати досліджень впроваджено в цьому господарстві на 3000 голів курчат-бройлерів.

Вид запроваджувальних результатів: впровадження результатів використання комплексу пробіотичних препаратів у складі комбікормів за вирощування курчат-бройлерів.

Новизна результатів досліджень! Застосовуються нові препарати імунобіотики шляхом використання їх у комбікормах для курчат-бройлерів. Запропонований новий спосіб підвищення продуктивності курчат-бройлерів.

Практичні рекомендації: для підвищення продуктивності курчат-бройлерів, підвищення резистентності та збереженості поголів'я доцільно у складі комбікормів використовувати пробіотичні препарати Лактокас та Пробіфід в дозі 0,4 та 0,5 г/кг комбікорму.

Економічний ефект: за вирощування 3000 голів курчат-бройлерів із використанням у складі комбікормів препаратів Лактокас та Пробіфід, собівартість виробництва 1 кг маси птиці зменшується на 3,8 %.

Завідувач кафедри неорганічної та аналітичної хімії

Білоцерківського національного аграрного університету,

професор



В.С. Бітюцький

Асистент кафедри екології та

біотехнології



Ю.О. Мельниченко