

СКЛАД МІКРОФЛОРИ СЛІПИХ КИШОК ТА ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА ДІЇ ФІТОПРЕПАРАТУ

А. В. Гунчак, І. Б. Ратич, М. В. Камінська

Інститут біології тварин НААН

У статті представлено результати досліджень впливу фітопрепарату з листя евкаліпту на кількісний та якісний склад мікрофлори сліпих кишок та показники клітинного імунітету курчат м'ясного напрямку продуктивності кросу КОББ-500. Встановлено, що вигодовування бройлерам настоєм з листя евкаліпту, починаючи від 10-добового віку в дозі 0,80 мл/кг маси впродовж їх вирощування, як самого, так і з додаванням аскорбінової кислоти сприяє зростанню кількості кишкової палички з підвищеною ферментативною активністю, зменшенню кількості кокових форм мікроорганізмів у вмісті сліпих кишок. При цьому, встановлено стимулювальний вплив досліджуваного препарату на активність Т-В-клітинної ланки імунітету у курчат-бройлерів.

Ключові слова: КУРЧАТА-БРОЙЛЕРИ, МІКРОФЛОРА СЛІПИХ КИШОК, КЛІТИННИЙ ІМУНІТЕТ, ФІТОПРЕПАРАТ

Доведено, що мікрофлора шлунково-кишкового тракту та макроорганізм — взаєморегулюючі та взаємозалежні біологічні системи. Мікробна флора бере участь у багатьох обмінних процесах, чим допомагає у підтриманні гомеостазу організму-господаря. Разом з функцією регуляції ліпідного та азотового обміну, травлення, синтезу вітамінів групи В та К, покращення моторики шлунково-кишкового тракту, мікрофлора шлунково-кишкового тракту забезпечує протиінфекційний захист макроорганізму [1]. Зміна якісного та кількісного складу мікрофлори внаслідок стресових чинників, захворювань та інфекціонування птиці патогенами може призводити до виникнення імунодефіцитів і дисбактеріозів, що проявляються зниженням природної резистентності, зменшенням вмісту Т-РУЛ, Т-хелперів, В-лімфоцитів у крові та лімфоїдних органах, активацією Т-супресорів, деструктивними змінами у центральних і периферичних органах імуногенезу [2].

За умов промислового вирощування птиці велику проблему становлять захворювання шлунково-кишкового тракту, які викликані збільшенням кількості та активності умовно-патогенної мікрофлори. Ці порушення призводять до сповільнення росту та розвитку молодняку птиці у зв'язку з порушенням обміну речовин. Застосування антибіотиків малоефективне через стійкість до них патогенних мікроорганізмів, які постійно є у господарських приміщеннях. Крім цього, антибіотики самі здатні викликати дисбактеріоз, порушуючи нормобіоз шлунково-кишкового тракту птиці. Альтернативою їм є пробіотики, екстракти рослин, імуномодулятори, що запобігають виникненню дисбіозів і покращують здоров'я тварин [3]. Отже, пошук ефективних фітобіотиків, які б володіли певними властивостями щодо підтримання стабільності імунного статусу організму птиці та рівноваги якісного і кількісного складу мікрофлори її кишечника є актуальним.

Тому, метою нашої роботи було дослідити вплив фітопрепарату з листя евкаліпту на якісний і кількісний склад мікрофлори сліпих кишок та показники клітинного імунітету у курчат-бройлерів.

Матеріали і методи

Дослід на курчатах м'ясного напрямку продуктивності кросу КОББ-500 провели в умовах віварію Інституту біології тварин НААН. За принципом груп-аналогів курчат-бройлерів, починаючи від 10-добового віку, було сформовано у чотири групи (контрольну і три дослідних), по 20 птахів у кожній. Умови утримання і годівлі птиці відповідали технологічним вимогам кліткового утримання бройлерів. Птиця усіх груп, залежно від вікового періоду, отримувала повнораціонний комбікорм (ПРК), збалансований за поживними та біологічно активними речовинами.

У досліді використовували свіжоприготовлений настій з листя евкаліпту: 20 г сухого листя евкаліпту заливали 200 мл кип'яченої води і настоювали на киплячій водяній бані протягом 15 хв. Після охолодження за кімнатної температури протягом 45 хв, проціджували, залишок відтискали до процідженого настою. Об'єм настою доводили кип'яченою водою до 200 мл. Курчатам дослідних груп після 10-добового віку випоювали з водою фітопрепарат за схемою, представленою у таблиці 1.

Таблиця 1

Схема досліді на курчатах-бройлерах з використання фітопрепарату з листя евкаліпту

Групи	Кількість птахів у групі	Кількість фітопрепарату, мл/кг живої маси птиці на добу,
Контрольна	20	—
Дослідна 1	20	0,8 мл/кг живої маси — щоденно
Дослідна 2	20	0,8 мл/кг живої маси (випоювали від 11- до 17- та від 25- до 31-добового віку, перерва — від 18- до 24-добового віку)
Дослідна 3	20	0,8 мл/кг живої маси + вітамін С (5 мг/л фітопрепарату)

Курчата контрольної групи фітопрепарат не отримували. Птиця першої дослідної групи з водою отримувала препарат протягом всього періоду досліді, тобто від 10- до 42-добового віку, а другої дослідної групи — з інтервалом у 7 діб. Бройлерам третьої дослідної групи випоювали фітопрепарат разом з вітаміном С (протягом всього періоду досліді).

Щодо гарантованого поступлення кількості препарату в організм птиці, то у проведених досліді ми регламентували кількість випитої птицею води, відповідно до норми з урахуванням віку і живої маси курчат.

У 42-добовому віці було проведено забій птиці. Для мікробіологічних досліджень брали взірці вмісту сліпих кишок загальноприйнятим методом, а також кров — для проведення імунологічного аналізу. Видовий, кількісний та якісний склад мікрофлори кишечника визначали за методом Коротяєва А. І. та Бабичева С. А. [4], кількість Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляції у крові — методом розеткоутворення [5].

Результати й обговорення

Процес становлення стабільного кишкового мікробіоценозу у кишечнику курчат триває протягом 30 діб, а зміни співвідношення мікрофлори відбуваються впродовж 42 діб після вилуплення [6].

Результати визначення кількісного і якісного складу мікрофлори сліпих кишок бройлерів у 42-добовому віці (табл. 2) показали, що у вмісті сліпих кишок курчат першої дослідної групи, яким випоювали препарат впродовж всього періоду досліді, було відзначено зменшення ($p < 0,01$) кишкової палички, порівняно з відповідним показником у курчат контрольної групи. Однак, співвідношення між штамами кишкової палички з різною ферментативною активністю залишилося незмінним і становило приблизно 97 до 3.

Щодо представників факультативної мікрофлори сліпої кишки бройлерів першої дослідної групи, то змінювалась тільки кількість паличок протею. Так, у вмісті сліпих кишок курчат першої дослідної групи вона була меншою, ніж у птиці контрольної групи ($p<0,05$). Кількість біфідо- та лактобактерій у вмісті сліпої кишки курчат контрольної і першої дослідної груп була високою, але знаходилась у межах допустимих норм. Лактозонегативних ентеробактерій та гемолізуючих штамів кишкової палички у птиці цієї групи не було виявлено, а кількість кокових форм зменшувалась на 4,37 % ($p<0,05$).

Таблиця 2

Склад мікрофлори сліпих кишок курчат-бройлерів ($M\pm m$, $n=5$)

Мікроорганізми	Групи			
	контрольна	дослідна 1 (0,80 мл/кг живої маси)	дослідна 2 (0,80 мл/кг живої маси)	дослідна 3 (0,80 мл/кг живої маси +вітамін С)
Заг. кількість кишкової палички, \log_{10} КУО/г	6,58 \pm 0,14	6,01 \pm 0,01**	6,26 \pm 0,23	6,87 \pm 0,18
— з нормальною ферментативною активністю, %	96,52 \pm 1,79	97,35 \pm 1,20	93,61 \pm 0,95	99,02 \pm 0,38
— з слабковираженими ферментативними властивостями, %	3,47 \pm 1,80	2,65 \pm 1,20	6,39 \pm 0,95	0,98 \pm 0,38
— лактозонегативні ентеробактерії, %	—	—	—	—
Гемолізуюча кишкова паличка, %	—	—	—	—
Кокові форми в загальній кількості мікробів, %	11,69 \pm 1,36	7,32 \pm 1,15	10,14 \pm 1,45*	7,50 \pm 1,25*
Біфідобактерії, \log_{10} КУО/г	10 \pm 0	10 \pm 0	10 \pm 0	10 \pm 0
Лактобактерії, \log_{10} КУО/г	10 \pm 0	10 \pm 0	10 \pm 0	10 \pm 0
Протей, \log_{10} КУО/г	2,39 \pm 0,09	2,05 \pm 0,05*	—	—
Гриби роду Candida, \log_{10} КУО/г	5,60 \pm 0,22	5,25 \pm 0,19	5,25 \pm 0,08	6,02 \pm 0,18

При випоюванні курчат-бройлерів фітопрепарату впродовж 7 днів з 7-денними перервами, помітних змін складу мікрофлори сліпих кишок нами не встановлено.

У вмісті сліпих кишок курчат третьої дослідної групи, яким випоювали фітопрепарат з додаванням аскорбінової кислоти, співвідношення штамів кишкової палички з нормальною ферментативною активністю до слабоферментуючих штамів становило 99 до 1. Кількість кокових форм у мікробіоті вмісту сліпих кишок бройлерів третьої дослідної групи була на 4,19 % меншою, ніж у курчат контрольної групи. У той же час, при застосуванні фітопрепарату впродовж дослідів у вмісті сліпих кишок бройлерів третьої дослідної групи не ідентифіковано паличок протею, лактозонегативних ентеробактерій та гемолізуючих штамів кишкової палички.

Антимікробний вплив фітопрепаратів, як свідчать дані літератури, зумовлений руйнування клітинної стінки бактерій та денатурацією і коагуляцією білків. Як наслідок, змінюється проникність цитоплазматичної мембрани для іонів H^+ і K^+ , викликаючи порушення клітинних процесів, таких як транспорт електронів, транс локація білків, фосфорилування та інші фермент-залежні реакції, що призводить до втрати хеміосмотичного контролю клітин і спричиняє їх апоптоз [7]. Водночас, зниження кількості патогенних бактерій, під впливом фітопрепаратів, підвищує доступність поживних речовин

корму, зменшує продукцію ріст-пригнічуючих токсинів або метаболітів, мікрофлорою кишківника [8].

Необхідно також враховувати роль транзиторних мікроорганізмів, зокрема стафілококів, стрептококів та протею. При цьому зазначимо, що шлунково-кишковий тракт птиці – відкрита біологічна система в яку постійно потрапляє велика кількість різних мікроорганізмів з кормом. Умовно-патогенні клони транзиторної мікрофлори можуть викликати захворювання лише на тлі дисбіотичних порушень. У інших випадках їх клітини виводяться з організму з послідом, або лізуються і слугують субстратом для облигатних мікроорганізмів [4].

Результати досліджень кількості активних Т-лімфоцитів, Т-хелперів, Т-супресорів, В-лімфоцитів, а також імунорегуляторного індексу (ІРІ) у курчат-бройлерів дослідних груп, порівняно до контролю, свідчать про стимулювальний вплив фітопрепарату на кількість і активність Т- і В-клітин імунної системи птиці (табл. 3).

Зокрема, за впоювання фітопрепарату, у курчат дослідних груп зростала кількість загальних Т-лімфоцитів і Т-активних-РУЛ. При цьому, кількість Т-загальних лімфоцитів у бройлерів за щоденного впоювання самого фітопрепарату зросла на 4,02 % ($p<0,05$), а фітопрепарату з вітаміном С — на 6,19 % ($p<0,01$), порівняно з птицею контрольної групи. Аналогічний характер змін спостерігався при дослідженні В-клітин.

Кількість теофілін-резистентних лімфоцитів у курчат першої дослідної групи зросла на 2,19 % ($p<0,05$), другої дослідної групи — на 4,53 % ($p<0,05$), а третьої дослідної групи — на 7,88 % ($p<0,01$).

Таблиця 3

**Кількість Т- і В- лімфоцитів у крові курчат-бройлерів
за дії фітопрепарату ($M \pm m$, $n=5$)**

Показники	Групи курей			
	контрольна	дослідна 1 (0,80 мл/кг живої маси)	дослідна 2 (0,80 мл/кг живої маси)	дослідна 3 (0,80 мл/кг живої маси +вітамін С)
Т-загальні Е- РУЛ, %	70,31 \pm 1,03	74,33 \pm 1,33*	72,25 \pm 2,05	76,50 \pm 1,19*
Т-активні Е-РУЛ, %	50,22 \pm 1,22	52,20 \pm 0,57	50,76 \pm 2,37	54,76 \pm 1,48*
Т-теофілінрезистентні-Т-РУЛ, %	41,45 \pm 1,51	43,64 \pm 1,18	45,98 \pm 0,91*	49,33 \pm 1,18**
Т-теофілінчутливі- Т-РУЛ, %	28,86 \pm 0,91	30,69 \pm 1,11	26,27 \pm 1,05	27,17 \pm 1,89
ІРІ	1,44	1,42	1,75	1,82
В-РУЛ, %	23,11 \pm 1,25	27,10 \pm 0,87*	24,0 \pm 0,98	27,75 \pm 1,15*

Таким чином, впоювання бройлерам фітопрепарату з листя евкаліпту в стосовній нам дозі і схемі застосування позитивно впливало на мікрофлору сліпих кишків, а також мало стимулювальний на активність Т-В-клітинної ланки імунітету у курчат-бройлерів.

Адже відомо, що фітопрепарати є натуральними продуктами, які за хімічним складом відповідають тканинам організму тварин і птиці, а тому легко перетравлюються, абсорбуються і засвоюються організмом, внаслідок чого забезпечується відповідний біологічний ефект. Натуральні компоненти, що містяться у фітопрепаратах меншою мірою викликають побічні ефекти. Пріоритет їх застосування зумовлений також невисокою вартістю та можливістю отримання екологічно безпечної продукції [9,10].

Висушене листя евкаліпту містить 1,5-3 % ефірної олії, найбільшою складовою частиною якої є цінеол (до 80 %). Завдяки цій сполуці, подібній до ментолу, очищена олія евкаліпта має виражену бактерицидну активність і не поступається карболовій кислоті.

Біологія тварин, 2012, т. 14, № 1–2

Механізм бактерицидної дії цінеолу полягає у зниженні проникності мембран, деструкції структур мікробних клітин з наступним порушенням внутрішньоклітинного метаболізму, зниження і пригнічення активності аеробного дихання. [11,12].

Крім цінеолу (кетон) в олії містяться — цитронеллал (альдегід); камфен, пінен, фелландрен, фенхен (терпени) та інші сполуки — всього близько 40 компонентів [13]. У листі є також дубильні речовини, флавоноїди, елагова кислота, смоли, віск. Лікувальні засоби, одержані з листків евкаліпта, мають антисептичну, протизапальну і заспокійливу дію. Вони згубно діють на грампозитивні і грамнегативні мікроби, негативно впливають на гриби і прості [14].

Висновки

1. Випоювання курчатам-бройлерам впродовж всього періоду вирощування фітопрепарату з евкаліпту (у кількості 0,80 мл/кг ж.м.) сприяло санації мікрофлори кишок, що проявлялось зменшенням кількості кишкової палички та кокових форм мікроорганізмів у вмісті сліпої кишки.

2. Випоювання бройлерам, як самого настою з евкаліпту, так і з додаванням вітаміну С, мало стимулювальний вплив препарату на активність Т-В-клітинної ланки імунітету.

Перспективи подальших досліджень. Розширення і поглиблення досліджень з використання фітопрепаратів у птахівництві.

A. V. Gunchak, I. B. Ratuch, M. V. Kaminska

COMPOSITION OF CECUM MICROFLORA AND INDICES OF CELLULAR IMMUNITY IN BROILER CHICKENS UNDER THE ACTION OF PHYTOMEDICATION

S u m m a r y

The article presents data about influence of plant-based preparation made from the leaves of eucalyptus to broiler chickens of Cobb-500 cross on the quantitative and qualitative composition of cecum microflora and the level of cellular immunity.

Drinking of the eucalyptus leaves infusion at a dose of 0.80 ml/kg of body weight from 10-day age as alone so with the addition of ascorbic acid had promoted the growth of *Escherichia coli* with increased enzyme activity, decreased the number of coccal forms of bacteria in the cecum chyme and improved the immune status of the organism.

A.V.Гунчак, И. Б. Ратуч, М. В. Каминская

СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ СЛЕПЫХ ОТРОСТКОВ КИШЕЧНИКА И ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПОД ВЛИЯНИЕМ ФИТОПРЕПАРАТА

А н н о т а ц и я

В статье представлены результаты исследований влияния фитопрепарата из листьев эвкалипта на количественный и качественный состав микрофлоры слепых отростков кишечника и показатели клеточного иммунитета цыплят кросса Кобб-500. Установлено, что выпаивание цыплятам-бройлерам одного настоя из листьев эвкалипта (в дозе 0,80 мл/кг массы, начиная с 10-суточного возраста птиц) или с добавлением аскорбиновой кислоты способствует увеличению количества кишечной палочки с повышенной ферментативной активностью, уменьшению количества кокковых форм микроорганизмов в содержимом отростков и улучшению иммунного статуса организма.

1. Герасименко В.В. Морфокинетическое действие микрофлоры желудочно-кишечного тракта на организм гусей / В.В. Герасименко // Вестник Оренбургского государственного университета. — 2005. — №2. — С. 132-136.
2. Бобрик О.Н. Состояние микробиоценоза кишечника цыплят при диарейных заболеваниях разной этиологии и возможности коррекции : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / О.Н. Бобрик ; ФГОУ ВПО "Брянская государственная сельскохозяйственная академия" — Санкт-Петербург, 2006. — 18 с.
3. Афонюшкин В.Н. Механизмы преодоления антибиотикорезистентности на птицефабриках / В.Н. Афонюшкин, М.А. Филипенко, Л.И. Малахеева // Новые технологии. — 2008. — № 14. — С. 9-10.
4. Коротяев А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А.И. Коротяев С.А. Бабичев — С.-Пб., —1998. — 580 с
5. Довідник: Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. /З а ред. В.В.Влізла. — Львів, 2004. — С. 195-197.
6. Стояновський В.Г. Пробиотики та імунна система шлунково-кишкового тракту птиці / В.Г. Стояновський, І.А. Коломієць // Сучасне птахівництво. — К.: Світ, 2011. — №4. — С.21-25.
7. Dorman H.J.D. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. / H.J.D. Dorman, S.G. Deans // Journal of Applied Microbiology — 2000. — Vol. 88., — P. 308-316.
8. Guo F.C. Effect of mushroom and herb polysaccharides, as alternatives for an antibiotic, on the cecal microbial ecosystem in broiler chickens. / F.C.Guo, B.A.Williams, R.P.Kwakkel, H.S.Li, X.P.Li, J.Y.Luo, et al. // J. Poult. Sci. — 2004. — Vol. 83., — P. 175-182
9. Савченко С.П. Фитобиотики для развития ремонтного молодняка / С.П. Савченко, С.Ф.Савченко // Птицеводство. 2006. —№ 4. — С.28-29;
10. Бородай В.П. Наукові аспекти розвитку птахівництва в Україні / В.П. Бородай, А.І. Вертійчук, О.В. Циганюк, В.В. Мельник // Аграрна наука і освіта. — 2000. — №1— С.104-108.
11. Serafino A. Stimulatory effect of Eucalyptus essential oil on innate cell-mediated immune response. / A. Serafino // BMC Immunol. — 2008. — Apr 18. — P. 9-17.
12. Ashour H.M. Antibacterial, antifungal, and anticancer activities of volatile oils and extracts form stems, leaves, and flowers of Eucalyptus sideroxylon and Eucalyptus torquata. Cancer / H.M. Ashour // Biol Ther. — 2008. — Mar;7(3). — P. 399-403.
13. Інтернетресурс [wttp://www.nashakrasa.com.ua/sekretikrasoti](http://www.nashakrasa.com.ua/sekretikrasoti)
14. Козярин И.П. Эвкалипт шариковый — лекарственное растение / И.П. Козярин, Г.Н.Липкан // Фітотерапія : Науково-практичний часопис. — К. : Поліум. — 2009. —№4. — С.60-67.

Рецензент: завідувач лабораторії імунології, доктор ветеринарних наук, с. н. с., Віщур О. І.