

УДК 619:611:619:615:636.087

ГІСТОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ОКРЕМИХ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ПОРОСЯТ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПРОБІОТИЧНИХ КОРМОВИХ ДОБАВОК

М. І. Жила
zhyla-m@ukr.net

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

Метою дослідження було вивчити, в порівняльному аспекті, вплив пробіотичних кормових добавок у рекомендованих виробником дозах і тривалості застосування, на гістологічну структуру окремих внутрішніх органів поросят. Пробіотики згодовували з кормом у різних концентраціях: 1 група — Probion-forte, виробництва Woogen (Корея) в дозі 1 г/кг корму (10 тижнів); 2 група — Probion-forte в дозі 1 г/кг (6 тижнів) та 0,5 г/кг корму (4 тижні); 3 група — пробіотик-аналог Bio plus 2B, виробництва фірми Biochem (Німеччина) в дозі 0,4 г/кг корму впродовж 10 тижнів; 4 група — контроль. Кожна група налічувала по 30 голів. На 42 та 70 добу досліду відбирали по 10 голів із кожної групи для патоморфологічних досліджень.

У результаті проведених досліджень встановлено, що використання пробіотика Probion-forte у вигляді кормової добавки поросят на відгодівлі, впродовж 10 тижнів після відлучення, сприяє кращому засвоєнню комбікорму та поступовому збільшенню маси тіла поросят, по відношенню до контролю.

При мікроскопічному дослідженні тимуса, селезінки, мезентеріальних лімфатичних вузлів, кишечнику та печінки встановлено, що характерна гістологічна будова органів збережена у всіх досліджуваних групах поросят. Морфометрично встановлено збільшення висоти ворсинок у дванадцятипалій кишці поросят, яким згодовували пробіотик. Маса тимуса поросят дослідних групи на 70 добу спостереження була достовірно вищою, ніж у контролі, часточкова будова добре виражена, часточки полігональної форми, поділ на кіркову і мозкову зони зберігався впродовж всього періоду дослідження. Щільність заселення тимоцитами висока. У периферійних органах імунної системи лімфоїдна тканина достатньо представлена, лімфоїдні вузлики селезінки та мезентеріальних лімфатичних вузлів добре сформовані, з чіткими межами, переважно малих та середніх розмірів, окремі з реактивними центрами, заселеність клітинами достатньо висока. У поросят контрольної групи, особливо на 70 добу досліду, в тимусі виявляли зменшення та вогнищеве спустошення кіркової зони, видовження тимусних часточок, потовщення міжчасточкової сполучної тканини. У селезінці та лімфатичних вузлах спостерігали зменшення розмірів та клітинне спустошення лімфоїдних вузликів.

Ефективність та доцільність застосування пробіотиків підтверджено у всіх дослідних групах. Проте, найбільш виражену різницю показників спостерігали у поросят, яким згодовували Probion-forte впродовж 10 тижнів у дозі 1,0 г/кг корму.

Ключові слова: ПРОБІОТИКИ, КОРМОВА ДОБАВКА, МОРФОЛОГІЯ, ПОРОСЯТА, ГІСТОСТРУКТУРА, ВНУТРІШНІ ОРГАНИ, ТИМОЦИТИ, ЛІМФОЇДНІ ВУЗЛИКИ, ВОРСИНКИ КИШЕЧНИКУ

HISTOLOGICAL STRUCTURE OF SEPARATE INTERNAL ORGANS OF PIGLETS AT APPLICATION OF PROBIOTIC FEED ADDITIVE

М. І. Zhyla
zhyla-m@ukr.net

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Donetska str., 11, Lviv, 79019, Ukraine

The aim of the test was to study the influence of probiotic feed additive in doses recommended by the producer and duration of application on the histological structure of separate internal organs of piglets. The product was added to feed in different concentrations: the first group was given probiotic Probion-forte produced by WooGene (Korea) in dose of 1 g/kg (10 weeks); the second one — Probion-forte in dose of 1g/kg (6 weeks) and 0.5 g/kg (4 weeks); the third one was given probiotic Bio Plus 2B produced by Biochem (Germany) in dose of 0.4 g/kg for 10 weeks; and the fourth one was a control group. Each group contained 30 units. On the 42nd and on the 70th day 10 units from the groups were taken for pathomorphologic tests.

The tests showed that application of probiotic Probion-forte to piglets in form of feed additive for the period of 10 weeks after weaning promotes better assimilation of compound feed and gradual weight gain in comparison with the control group.

The microscope study of thymus, spleen inferior mesenteric lymph nodes, intestine and liver showed that typical histological structure in all treated groups was preserved. The morphometric study showed the increase of villus height in duodenum of piglets fed by probiotic. The thymus weight of piglets in the experimental group on the 70th day of test was significantly bigger than in the control one, lobular structure was well expressed, parts of polygonal form, allocation of cortex and medulla were preserved during the test period. The thymocytes were densely situated. In the peripheral organs of immune system lymphoid tissue is sufficiently presented, lymphoid follicles of spleen and inferior mesenteric lymph nodes are well formed, of small and average sizes, some of them are formed with reactive centres, cell population is high enough. While in the control group on the 70th day of test in thymus we observed decrease and focal devastation of cortex, lengthening of thymus parts, thickening of interlobular connective tissue. In spleen and lymph nodes we observed decrease of sizes and cell devastation of lymphoid follicles.

The efficacy and expediency of application were acknowledged in the experimental groups. The most significant difference in indices was observed in piglets fed by Probion-forte during the period of 10 weeks in dose of 1,0g/kg of feed.

Keywords: PROBIOTICS, FEED ADDITIVE, MORPHOLOGY, PIGLETS, HISTOSTRUCTURE, INTERNAL ORGANS, THYMOCYTES, LYMPHOID FOLLICLES, VILLUS HEIGHT

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА НЕКОТОРЫХ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПОРОСЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРОБИОТИЧНЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК

Н. И. Жила
zhyla-m@ukr.net

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

Целью исследования было изучить в сравнительном аспекте влияние пробиотических кормовых добавок в рекомендованных производителем дозах и длительности применения, на гистологическую структуру внутренних органов поросят. Пробиотики применяли с кормом в разных концентрациях: 1 группа — Probion-forte, производства Woogen (Корея) в дозе 1 г/кг корма (10 недель); 2 группа — Probion-forte в дозе 1 г/кг (6 недель) и 0,5 г/кг корма (4 недель) 3 группа поросят получала пробиотик-аналог Bio plus 2B, производства фирмы Biochem (Германия) в дозе 0,4 г/кг корма в течение 10 недель; 4 группа служила контролем. В каждой группе было по 30 голов. На 42 и 70 сутки опыта из каждой группы отбирали по 10 голов для патоморфологических исследований.

В результате проведенных исследований установлено, что использование Probion-forte поросятам на откорме, в течение 10 недель после отлучки, способствует лучшему усвоению комбикорма и постепенному увеличению массы тела поросят, по сравнению с контролем.

При микроскопическом исследовании тимуса, селезенки, мезентериальных лимфатических узлов, кишечника и печени установлено, что характерное гистологическое строение сохранено у поросят всех опытных групп. Морфометрически установлено увеличение высоты ворсинок слизистой оболочки в двенадцатиперстной кишке поросят, которым скармливали пробиотик.

Масса тимуса поросят опытных групп на 70 сутки исследования была достоверно выше, чем в контроле, дольчатая структура органа хорошо выражена, дольки полигональной формы, деление на корковую и мозговую зоны сохранялось на протяжении всего периода исследования. Плотность заселения тимоцитами была высокой. В периферических органах иммунной системы лимфоидная ткань достаточно выражена, лимфоидные узелки (фолликулы) селезенки и мезентериальных лимфатических узлов хорошо сформированы, с четкими границами, преимущественно малых и средних размеров, некоторые с реактивными центрами, заселенность клетками достаточно высокая. У поросят контрольной группы, особенно на 70 сутки опыта, в тимусе выявили уменьшение и очаговое опустошение корковой зоны, удлинения тимусных долек, утолщение междольковой соединительной ткани. В селезенке и лимфатических узлах наблюдали уменьшение размеров и клеточное опустошение лимфоидных фолликул.

Эффективность и целесообразность применения пробиотиков подтверждена во всех опытных группах. Однако, наиболее выраженная разница показателей, по сравнению с контролем, наблюдалась у поросят, которым скармливали Probion-forте в течение 10 недель в дозе 1,0 г/кг корма.

Ключевые слова: ПРОБИОТИКИ, КОРМОВАЯ ДОБАВКА, МОРФОЛОГИЯ, ПОРОСЯТА, ГИСТОСТРУКТУРА, ВНУТРЕННИЕ ОРГАНЫ, ТИМОЦИТЫ, ЛИМФОИДНЫЕ ФОЛЛИКУЛЫ, ВОРСИНКИ КИШЕЧНИКА

Пробіотичні кормові добавки, набувають все більшого застосування при відгодівлі тварин і птиці як з лікувальною, так і профілактичною метою. Ринок препаратів цієї групи активно розвивається і поповнюється щораз новими зразками вітчизняного та іноземного виробництва [1–3]. Спеціалістами ветеринарної медицини для підвищення перетравності і засвоєння кормів, стимуляції росту та розвитку тварин, підвищення неспецифічного імунітету застосовуються ферментні, пробіотичні, пребіотичні і комбіновані ферментно-пробіотичні препарати, а також комплексні пробіотичні препарати, збагачені фітокомпонентами [4]. Пробіотики позитивно впливають на організм, сприяють відновленню травлення, біологічного статусу, імунної відповіді, підвищують ефективність вакцинацій. Застосування пробіотиків суттєво зменшує витрати на лікування захворювань, підвищує продуктивність і покращує якість тваринницької продукції [5–7].

До нового покоління пробіотичних кормових добавок відносяться сорбовані форми пробіотиків, які володіють високою біологічною активністю і перспективні для застосування в раціонах різних видів тварин та птиці [8, 9].

Метою дослідження було вивчити, в порівняльному аспекті, вплив пробіотичних

кормових добавок Probion-forте (виробник Woogen, Корея) і Bio plus 2В (виробник Biochem, Німеччина) у рекомендованих виробником дозах та тривалості застосування, на гістологічну структуру внутрішніх органів поросят.

Матеріали і методи

Дослідження проводили в ННВЦ «Комарнівський» Городоцького району Львівської області, на 120 поросятах породи велика біла, 28-добового віку, сформованих у чотири групи по 30 голів у кожній: 1 група отримувала пробіотик Probion-forте в дозі 1 г/кг корму (10 тижнів); 2 група — Probion-forте в дозі 1 г/кг (6 тижнів) та 0,5 г/кг корму (4 тижні); 3 група поросят отримувала пробіотик-аналог Bio plus 2В, який застосовували в дозі 0,4 г/кг корму впродовж 10 тижнів; 4 група служила контролем. Комбікорм згодовували згідно з нормами, рекомендованими для породи велика біла з урахуванням вікової категорії. Ветеринарно-санітарну обробку проводили відповідно до розробленої в господарстві схеми. Динаміку зміни маси тіла, аналіз кормового раціону, поїдання корму, збереженість поросят визначали на 1, 14, 28, 42, 56 і 70 доби досліду. Тварин утримували в клітках по 15 голів у кожній,

з вільним доступом до корму і води. На 42 добу (6 тижнів) та 70 добу (10 тижнів) добу відбирали по 10 голів тварин з кожної групи для патоморфологічних досліджень.

Після забою поросят проводили повний патологоанатомічний розтин, із відбором матеріалу для гістологічного та морфометричного досліджень. Внутрішні органи зважували, вираховували їх вагові коефіцієнти. Відібраний матеріал фіксували та обробляли згідно із загальноприйнятими методиками гістологічного дослідження [10]. Мікроскопію проводили з допомогою мікроскопа OLIMPUS CX-41 і морфометричної програми DP-SOFT. Статистичну обробку отриманих результатів проводили на комп'ютері за допомогою програми Microsoft Excel.

Результати й обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що використання пробіотика Probion-forte у вигляді кормової добавки поросят на відгодівлі, впродовж 10 тижнів після відлучення, сприяє кращому засвоєнню комбікорму та поступовому збільшенню маси тіла поросят, по відношенню до контролю. Так, в 1 групі при середній масі тіла тварин $38,7 \pm 0,3$ кг конверсія корму становила 2,24; у 2 групі маса тіла $38,4 \pm 0,31$ кг, конверсія — 2,26; у 3 групі маса тіла $37,1 \pm 0,24$ кг, конверсія — 2,37; у контрольній групі при середній масі тіла $35,4 \pm 0,26$ кг, конверсія становила 2,5. Середньодобові прирости були вищими, у порівнянні до контролю у 1 групі в середньому на 79,0 г, у 2 і 3 групах, відповідно, на 77,0 і 50,0 г.

При макроскопічному дослідженні тимус в усіх групах поросят на 42 та 70 добу досліду зберігав характерну анатомічну будову для цього виду тварин, блідо-рожевого кольору, м'якої консистенції. На розрізі характерна архітектоніка органу виражена добре. Маса тимуса на 70 добу досліду у поросят 1–3

груп була більшою у порівнянні з контрольною групою, на 20, 24 та 11 % відповідно. Показники індексу тимуса також були вищі у тварин, які отримували пробіотичну кормову добавку.

При мікроскопічному дослідженні тимуса часточкова будова органу збережена у всіх досліджуваних тварин. Часточки полігональні, окремі з них набували видовженої форми переважно у контрольній групі. На 42 добу досліду часточки тимуса чітко розділені на кіркову і мозкову речовину у всіх дослідних групах (рис. 1). Кіркова зона займала більшу частину часточки (58–65 %), менша площа припадала на мозкову (35–42 %). Кіркова речовина часточок тимуса поросят 1 та 2 груп щільно заселена тимоцитами, різного розміру. На 70 добу досліду відмічали більш виражену різницю у гістологічній структурі тимуса досліджуваних тварин. Так, у поросят контрольної групи кіркова зона займала меншу частину часточки (28–40 %), більша площа (60–72 %) припадала на мозкову речовину. Субкапсулярна зона кіркової речовини вузька, представлена переважно 2–3 рядами лімфоцитів і лімфобластів. Міжчасточкова сполучна тканина потовщена, з наявністю жирових відкладень. Характерним було явище вогнищового збіднення кіркової речовини тимоцитами. У місцях відсутності тимоцитів виявляли макрофаги з фагоцитованими тимоцитами або їх фрагментами (рис. 2), тоді, як у поросят 1 та 2 груп кіркова зона займала більшу частину площі (52–64 %) тимусної часточки, поділ між зонами збережений, міжчасточкова сполучна тканина вузька. Кіркова речовина часточок тимуса щільно і рівномірно заселена тимоцитами, різного розміру (рис. 3). Густота заселення клітинами мозкової речовини значно менша ніж, кіркової. Тимусні тільця (тільця Гассалья) різних розмірів, округлої форми, локалізувались у мозковій речовині.

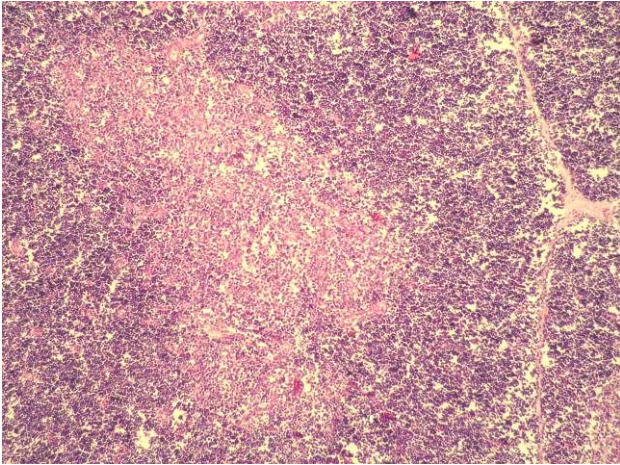


Рис. 1. Тимус поросяти 1 групи, 42 доба дослідю. Поділ на кіркову і мозкову зону збережений. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

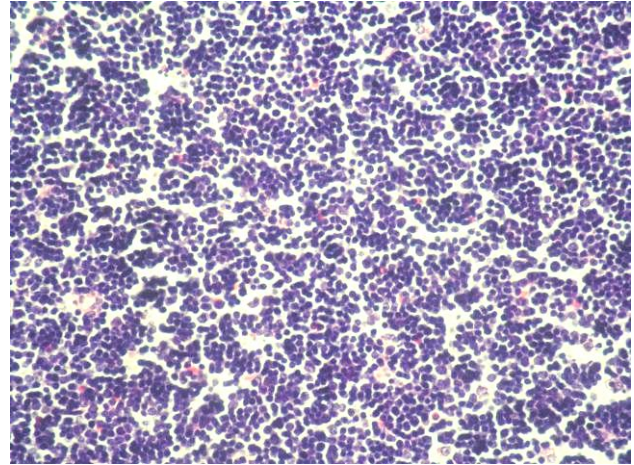


Рис. 3. Тимус поросяти 1 групи, 70 доба дослідю. Кіркова речовина щільно заселена тимоцитами. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

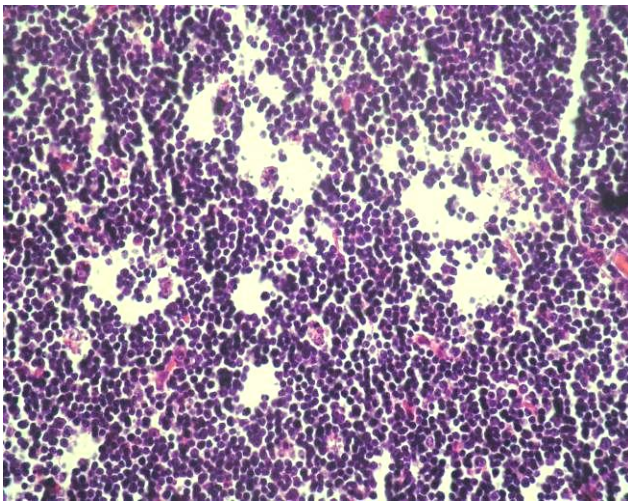


Рис. 2. Тимус поросяти 4 групи, 70 доба дослідю. Вогнищеве збіднення кіркової речовини тимоцитами. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

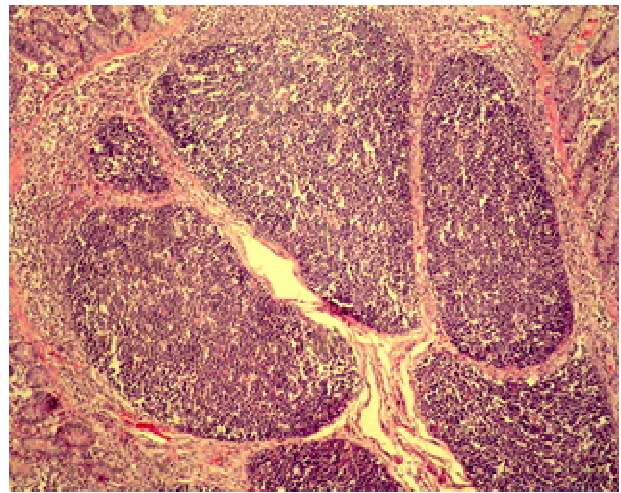


Рис. 4. Лімфоїдні вузлики у підслизовому шарі сліпої кишки поросяти 1 групи, 70 доба дослідю. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

Селезінка в усіх дослідних груп поросят на 42 та 70 доби дослідю зберігала характерну анатомічну будову для цього виду тварин, сіро-синього кольору з фіолетовим відтінком, тістуватої консистенції, краї гострі, капсула органу еластична. На розрізі характерна структура збережена, зіскребок пульпи незначний або відсутній. Мікроскопічна структура селезінки збережена у всіх групах поросят. Поділ на червону і білу пульпу виражений. Лімфоїдні вузлики видовженої форми, переважно малих та середніх розмірів, локалізувались навколо центральних артерій. Вузлики з гермінативними центрами спостерігалися частіше у поросят,

яким згодовували пробіотики, їх клітинний склад представлений переважно малими та середніми лімфоцитами, лімфобластами та плазмоцитами. Щільність заселення клітинами була помітно вищою у поросят 1 та 2 груп, у порівнянні з контролем, особливо на 70 добу дослідю.

Мезентеріальні лімфатичні вузли в усіх досліджуваних груп поросят були не збільшені, мали вигляд валиків, блідо-рожевого кольору, на розрізі вологі. При мікроскопічному дослідженні добре виражені кіркова і мозкова речовини, іноді й паракортикальна зона. Кіркова речовина займала більшу частину, а мозкова — меншу від загальної площі гістозрізу. У поросят 1

та 2 груп лімфоїдні вузлики добре сформовані, границі чіткі, більшість з реактивними центрами. У лімфатичних вузлах поросят, які не отримували пробіотика виявляли помірне спустошення лімфоїдних вузликів клітинними елементами, переважно на 70 добу досліду.

При гістологічному дослідженні дванадцятипалої кишки поросят встановлено, що ворсинки у всіх дослідних груп поросят невисокі, покриті циліндричним епітелієм. Ентероцити мали добре виражену щіточкову облямівку на апікальній поверхні, витягнутої форми ядра розміщувались у базальній третині цитоплазми. Між ентероцитами виявляли поодинокі келихоподібні клітини, заповнені слизом. В основі ворсинок наявні крипти. Дуоденальні залози чітко сформовані, локалізувались у підслизовому шарі. У поросят 1 та 2 групи, яким до корму додавали пробіотик Probion-forte, на 70 добу досліду, в дозі 1,0 та 1,0-0,5 г/кг корму виявляли, що ворсинки однорідні, дещо вищі, порівняно з 4 групою. Так, у дванадцятипалій кишці поросят 1 групи довжина ворсинок становила $488,32 \pm 43,8$ мкм, що в середньому на 35,55 мкм більше, ніж у поросят 4 (контрольної) групи. При цьому у поросят 2 та 3 груп спостерігали подібну динаміку. Довжина ворсинок дванадцятипалої кишки поросят 2 групи збільшувалась, відповідно, на 25,35 мкм і 3 групи — на 20,35 мкм, у порівнянні з 4 групою. Глибина крипт дванадцятипалої кишки поросят 1 групи на 70 добу досліду становила $35,91 \pm 2,4$ мкм, 2 групи — $33,52 \pm 3,7$ мкм, 3 групи — $34,18 \pm 2,9$ мкм, у контролі — $31,03 \pm 2,1$ мкм. Співвідношення довжини ворсинок до глибини крипт складало: у 1 групі — 1:0,073; 2 групі — 1:0,070; 3 групі — 1:0,072; і 4 групі — 1:0,068.

При мікроскопічному дослідженні сліпої кишки характерна гістологічна структура збережена у всіх дослідних групах поросят. Слизова оболонка складчаста, ворсинок не утворює, представлена епітеліальним шаром, власне слизовою оболонкою, м'язовою

пластинкою та підслизовою основою. Епітеліальний шар — одношаровий стовбчастий епітелій, з великою кількістю келихоподібних клітин. У підслизовому шарі виявляли чітко сформовані лімфоїдні вузлики (рис. 4). М'язова оболонка складалася з двох шарів гладких м'язових волокон. Серозна оболонка мала інтенсивно розвинутий сполучнотканинний шар, вкритий мезотелієм. Макроскопічно печінка у всіх досліджуваних групах поросят на 42 та 70 доби досліду характерної анатомічної будови, в переважній більшості однорідно забарвлена — темно-коричневого кольору, краї гострі, структура на розрізі збережена, консистенція пружна. При гістологічному дослідженні печінки поросят усіх груп на 42 та 70 добу досліду встановлено, що паренхіма розділена сполучнотканинними перегородками на печінкові дольки. Гепатоцити розміщуються навколо центральної вени, щільно одні до одних і утворюють довгі, радіально орієнтовані тяжі — печінкові балки. Клітини печінки полігональної форми, ядра чітко контуровані. У поросят контрольної групи, рідше дослідних, переважно на 70 добу досліду, виявляли вогнища дисконкомплексції балочної будови, гепатоцити з неоднорідно забарвленою, зернистою цитоплазмою, ядра слабо зафарбовані, траплялися клітини з ознаками лізису.

Висновки

Використання пробіотичних кормових добавок поросят на відгодівлі, впродовж 10 тижнів після відлучення, сприяє кращому засвоєнню комбікорму та поступовому збільшенню маси тіла поросят, по відношенню до контролю.

При мікроскопічному дослідженні тимуса, селезінки, брижових лімфатичних вузлів, кишечнику, печінки, характерна гістологічна будова органів збережена у всіх досліджуваних груп поросят. Морфометрично встановлено збільшення висоти ворсинок у дванадцятипалій кишці поросят, яким згодовували пробіотики.

Гістологічна характеристика органів імунної системи поросят, яким згодовували пробіотики, вказувала на їх активний морфофункціональний стан: часточкова будова тимуса добре виражена, часточки полігональної форми, поділ на кіркову і мозкову зони зберігався впродовж всього періоду дослідження. Щільність заселення тимоцитами висока. У периферійних органах імунної системи лімфоїдна тканина достатньо представлена, лімфоїдні вузлики селезінки та мезентеріальних лімфатичних вузлів добре сформовані, з чіткими межами, переважно малих і середніх розмірів, окремі з реактивними центрами, заселеність клітинами достатньо висока. Найбільш виражена різниця показників спостерігалась у поросят, яким згодовували ProBion-forte впродовж 10 тижнів у дозі 1,0 г/кг корму.

Перспективи подальших досліджень. Для детальнішого вивчення морфологічного стану органів і тканин поросят, яким до основного кормового раціону вводили пробіотичні кормові добавки, будуть проведені подальші дослідження на ультраструктурному рівні (електронна мікроскопія).

1. Bliznetsov A. V., Tokarev I. N. Results of the use of probiotics at growing of piglets in the conditions of industrial technology. *Materials of international scientific-practical conference «Agrokompleks-2013»*, 2013, T. 1, pp. 151–152 (in Russian).

2. Panin A. N., Malik N. I. Probiotics inalienable component of the rational feeding of

animal. *The Veterinary*, 2006, no. 7, pp.19–22 (in Russian).

3. Anadyn A., Martinez-Larranaga M., Aranzazu-Martinez M. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and Safety Assessment. *Regulatory Toxicology. Pharmacology*, 2006, vol. 45, pp. 91–95.

4. Collins M. D., Gibson G. R. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999, vol. 69 (5), pp. 1052–1057.

5. Reshetnichenko O., Orlov L., Kryukov V. Probiotics in feeding of animal. *A stock-raising of Ukraine*, 2012, no. 5, pp. 25–29 (in Ukrainian).

6. Lisova N. E., Schebentovska O. M., Rudik G. V., Maksimovich O. A., Gumenetska M. I., Kolodiy G. V. The influence of probiotics on immune status and morphofunctional condition of separate structures of intestinal tract of piglets. *Scientific and technical bulletin of Institute of Animal Biology and State scientific-research control institute of veterinary medicinal products and feed additives*, 2013, Vyp. 14, № 3–4, pp. 225–231 (in Ukrainian).

7. Szymanska-Czerwinska M., Bednarek D. Wpływ prebiotyków na procesy immunologiczne u zwierząt. *Medycyna Wet.*, 2008, vol. 64 (3), s. 262–264.

8. Ushakova N. A., Nekrasov R. V., Pravdin V. G. New generation of probiotics preparations of the feed setting. *The Fundamental Researches*, 2012, no. 1, pp. 184–192 (in Russian).

9. Cummings J. H., Macfarlane G. T., Englyst H. N. Probiotics digestion and fermentation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, suppl.73, pp. 415–420.

10. Merkulov H. A. *Course of pathohistological techniques*. Leningrad, Medicine Publ., 1969. 423 p. (In Russian).