

ЗМІНИ У СКЛАДІ МІКРОФЛОРИ КИШЕЧНИКУ ЯПОНСЬКИХ ПЕРЕПЕЛІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПРОБІОТИЧНИХ ДОБАВОК

М. В. Камінська, Г. В. Колісник, Ю. В. Кулай, Н. І. Борецька, Н. І. Цепко,
С. В. Гураль, Ю. В. Небиловський, Г. І. Нечай

Інститут біології тварин УААН

У статті наведена порівняльна характеристика складу мікрофлори кишечника японських перепелів при впоюванні пробіотику «Байкал» ЕМ-1-У та згодовуванні біомаси дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Встановлено позитивний вплив пробіотику «Байкал» на мікробоценоз прямої кишки 21-добових перепілок, що проявлявся зростанням загальної кількості кишкової палички за рахунок лактозопозитивних штамів та зменшенням кількості кокових форм. У групі птахів, яким згодовували біомасу дріжджів, достовірних змін виявлено не було, проте спостерігалась тенденція до зростання кількості стрептококів, стафілококів та грибків. При тривалому застосуванні пробіотику «Байкал» (протягом двох місяців) у вмісті кишечника зростає кількість слабоферментуючих штамів кишкової палички до 10 % від загальної кількості мікроорганізмів.

Отримання якісних продуктів птахівництва, зокрема перепелівництва, неможливе без забезпечення здоров'я птиці та повноцінного живлення. Однак, застосування збалансованих раціонів не означає повну трансформацію його компонентів у продукцію. Причина у порушенні травлення та засвоєння корму, що викликано негативними змінами у складі мікробіоценозу кишечника. Різка зміна оптимального співвідношення представників мікрофлори шлунково-кишкового тракту веде до подразнення кишкових стінок, що викликає посилену перистальтику, зменшення поглинання води, зниження перетравності корму, і, як наслідок, погіршення всмоктування поживних речовин [1].

В останні роки ринок ветеринарних препаратів пропонує застосовувати різноманітні пробіотичні та пребіотичні добавки для покращення стану мікрофлори кишечника [2]. До їх складу входять живі мікроорганізми (лактобактерії, біфідобактерії, кишкові палички, спороносні бактерії та дріжджі), а також продукти їх життєдіяльності або легкозасвоювані субстрати [3]. Усі пробіотичні препарати мають різний механізм дії однак результат досягається стабілізацією, або відновленням природного стану мікрофлори шлунково-кишкового тракту. Застосування у складі препаратів клітин дріжджів, представників транзитної і неіндигенної мікрофлори, останнім часом викликає ряд запитань через неоднозначність отриманих результатів, зокрема виникнення фунгемії [4].

У попередніх наших роботах на лабораторних тваринах було показано позитивний вплив добавок біомаси дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* на склад мікробоценозу кишечника [5]. У той же час суперечливі результати досліджень ендоекології сільськогосподарських тварин та птиці при застосуванні дріжджових пробіотиків вимагають подальших робіт у даному напрямку.

Тому метою нашої роботи було дослідити зміни у складі мікрофлори кишечника японських перепелів при згодовуванні біомаси дріжджів *S. cerevisiae* та впоюванні пробіотику «Байкал» ЕМ-1-У, до складу якого входять лактобактерії (*L. casei*, *L. lactis*) і дріжджі *S. cerevisiae*.

Матеріали і методи. Дослідження проводили в умовах приватного господарства ПП «Залізний Б.Я.» Городоцького району Львівської області на трьох групах перепелів 6-добового віку по 80 голів в кожній: 1 — контрольна група, перепели, яким згодовували стандартний комбікорм, 2 — перепели, яким впоювали пробіотик «Байкал» ЕМ-1-У в рекомендованих дозах (реєстраційне посвідчення № 2532-02-830-07 від 27.03.2007 р., виробник ТОВ «ЕМ-центр Україна», м. Харків), 3 — перепели, до раціону яких додавали 1 %

біомаси дріжджів *S. cerevisiae*. Утримання птахів було кліткове з вільним доступом до корму та води. У 21- та 58-добовому віці з кожної групи брали по 3 перепели і проводили декапітацію. Стерильно відбирали вміст порожнини прямої кишки. У зразках вмісту кишечника досліджували видовий кількісний та якісний склад мікрофлори методом розведень та висівання мікроорганізмів на елективні середовища [6]. Ідентифікацію їх проводили за морфологічними, фізіологічними та біохімічними властивостями.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили на ПК за допомогою програми *Microsoft Excel*.

Результати та обговорення. Було досліджено видовий кількісний та якісний склад мікрофлори у зразках вмісту кишечника при згодовуванні біомаси дріжджів та пробіотика «Байкал». У вмісті прямої кишки 21-добових перепілок ми відзначили достовірне зростання загальної кількості кишкової палички у групі, яким випоювали пробіотик, на $0,63 \log_{10}$ КУО/г ($p < 0,001$) та тенденцію до збільшення у групі, якій згодовували біомасу дріжджів *S. cerevisiae* (табл.2.2). В обох групах зростання відбулось за рахунок лактозопозитивних штамів, однак у групі, якій випоювали пробіотик, цей ефект був помітнішим. У птиці усіх груп лактозонегативних ентеробактерій виявлено не було, зустрічались поодинокі колонії гемолізуючих штамів кишкової палички. Кількість основних представників облигатної мікрофлори – біфідо- та лактобактерій була у межах 10 та $8,66-9,33 \log_{10}$ КУО/г відповідно.

Таблиця 1

Склад мікрофлори вмісту порожнини прямої кишки 21-добових перепілок за добавок у раціоні різних пробіотичних препаратів ($M \pm m$, $n=3$)

Мікроорганізми	Контрольна група	Пробіотик «Байкал»	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Облігатна мікрофлора</i>			
<i>Escherichia coli</i> , \log_{10} КУО/г	8,20±0,04	8,33±0,05***	8,23±0,09
— лактозопозитивні штами, % від заг. кількості	80,99±9,32	92,77±1,97	81,23±7,95
— штами із слабо вираженими ферментативними властивостями, % від заг. кількості	19,01±9,32	7,23±1,97	18,76±7,95
— гемолізуючі штами, % від заг. кількості	0	0	0,01
Біфідобактерії, КУО/г	10^{10}	10^{10}	10^{10}
Лактобактерії, КУО/г	10^9-10^{10}	10^9-10^{10}	10^8-10^9
<i>Факультативна мікрофлора</i>			
Кокові форми в загальній кількості мікробів, %	8,11±0,86	4,12±0,42*	17,93±1,75**
Бактерії роду <i>Proteus</i> , КУО/г	10^2	10^2	10^2
Грибки роду <i>Candida</i> , КУО/г	10^4	10^4	10^4-10^5
Дріжджі, КУО/г	$0,3 \times 10^2$	0	$(535,33 \pm 42,53) \times 10^2$

Примітка. *, ** та *** — $P < 0,05$, $P < 0,01$ та $P < 0,001$ відповідно

Щодо факультативної мікрофлори, то у вмісті кишечника перепілок дослідних груп відбулися достовірні зміни у загальній кількості кокових форм (стрепто- та стафілококів). У групі з пробіотиком «Байкал» спостерігалось зменшення їх кількості до 4,12 % ($p < 0,05$) від загальної кількості мікробів відповідно. У той же час вміст стрепто- та стафілококів у групі з застосуванням біомаси дріжджів *S. cerevisiae* був на 9 % ($p < 0,05$) більший у порівнянні з показником контрольної групи. З вмісту кишки перепілок, які отримували біомасу дріжджів *S. cerevisiae*, були висіяні у значних кількостях (10^4) дріжджі *S. cerevisiae* на фоні збільшення кількості грибків. У групі з застосуванням пробіотика таких змін не було.

Таким чином, ми встановили позитивний вплив добавки пробіотика «Байкал» до раціону на склад мікробіоценозу прямої кишки 21-добових перепілок. Він проявлявся у збільшенні кількості кишкової палички за рахунок лактозопозитивних штамів та зменшенні кількості стрепто- та стафілококів. У групі перепілок, яким згодовували біомасу дріжджів *S. cerevisiae*, достовірних позитивних змін встановлено не було.

У 58-денних перепелів відбувся перерозподіл між основними групами мікроорганізмів вмісту кишки. Загальна кількість кишкової палички зменшилась в усіх групах від 8,20–8,83 \log_{10} КУО/г у 21-добових до 6,20–6,45 у 58-добових перепілок, тобто у 100 разів (рис. 1).

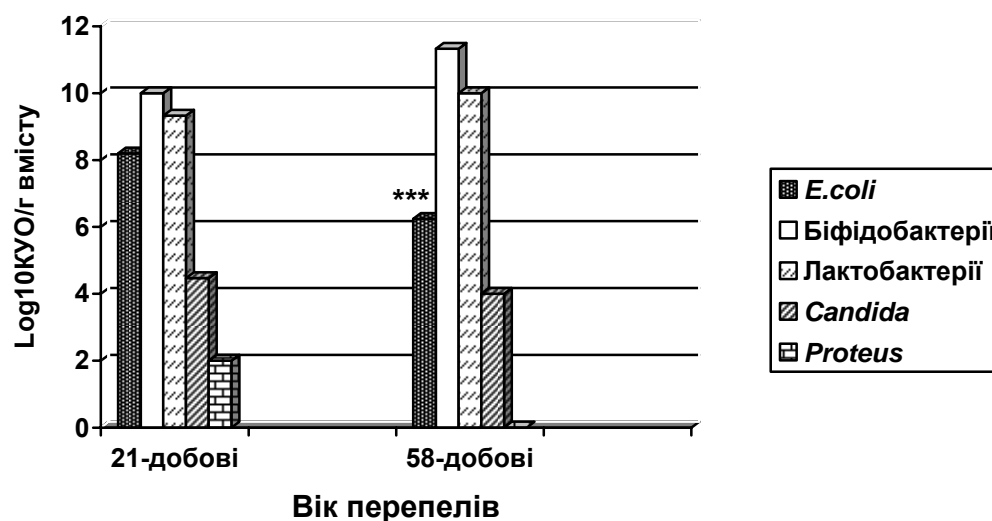


Рис. 1. Вікові зміни у складі мікробіоценозу прямої кишки перепелів контрольної групи.

У вмісті кишки 58-добових перепелів зростає кількість лактозопозитивних штамів кишкової палички (до 96,83 %) та зменшилась кількість слабоферментуючих штамів (табл. 2). У той же час, нами відмічено збільшення кількості біфідобактерій з 10 до 10,67 \log_{10} КУО/г та лактобактерій з 8,66–9,33 до 10–10,67 \log_{10} КУО/г. В усіх групах 58-добових перепілок у вмісті кишки не виявляли протею, однак зустрічались поодинокі колонії лактозонегативних ентеробактерій та грибків. Усі показники не перевищували загальнодопустимі норми.

У групі перепілок на раціоні з біомасою дріжджів *S. cerevisiae* протягом дослідження збереглась тенденція до збільшення кількості лактозопозитивних штамів кишкової палички, однак загальна кількість кишкової палички достовірно не відрізнялась від показника у інших групах. Як і в 21-добових перепілок, з вмісту кишки у значних кількостях висівали дріжджі *S. cerevisiae*.

При застосуванні пробіотика «Байкал» протягом 52 діб у вмісті кишечника перепелів зменшилась кількість лактозопозитивних штамів кишкової палички та до 10 % від загальної кількості *E. coli* зростає кількість штамів з слабкою ферментативною активністю. У 58-добових перепелів дослідних груп із застосуванням пробіотика та біомаси дріжджів *S. cerevisiae* достовірних різниць у всіх показниках складу мікрофлори вмісту прямої кишки, порівняно з контрольною групою, виявлено не було.

Таблиця 2

Склад мікрофлори вмісту порожнини прямої кишки 58-добових перепілок за добавок у раціоні різних пробіотичних препаратів ($M \pm m$, $n=3$)

Мікроорганізми	Контрольна група	Пробіотик «Байкал»	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Облігатна мікрофлора</i>			
<i>Escherichia coli</i> , \log_{10} КУО/г	6,24±0,22	6,45±0,22	6,20±0,20
— лактозопозитивні штами, % від заг. кількості	96,27±2,75	90,43±3,99	96,83±2,48
— штами із слабо вираженими ферментативними властивостями, % від заг. кількості	5,60±0,35	9,57±3,99	3,16±2,48
— гемолізуючі штами, % від заг. кількості	0	0	0
Біфідобактерії, КУО/г	10^{11} - 10^{12}	10^{11} - 10^{12}	10^{10} - 10^{11}

Лактобактерії, КУО/г	10 ¹⁰	10 ¹⁰ -10 ¹¹	10 ¹⁰ -10 ¹¹
<i>Факультативна мікрофлора</i>			
Кокові форми в загальній кількості мікробів, %	11,57±1,32	7,33±1,33	11,33±1,40
Бактерії роду <i>Proteus</i> , КУО/г	0	0	0
Грибки роду <i>Candida</i> , КУО/г	10 ⁴	10 ⁴ -10 ⁵	10 ⁵ -10 ⁶
Дріжджі, КУО/г	0	0	(165,33±28,22)×10 ²

Таким чином, нами встановлено, що у 58-добових перепілок склад мікрофлори вмісту кишки перепелів різних груп стабілізувався. У здорових дорослих перепелів незалежно від внесених добавок пробіотичних препаратів спостерігається стабільна сформована мікрофлора кишечника. Тому корегуючі пробіотичні добавки доцільно застосовувати при вирощуванні молодняку птиці для швидшого становлення мікробіоценозу кишечника, забезпечення імунітету та покращення засвоюваності компонентів корму. З наших досліджень випливає, що використовувати біомасу дріжджів *S. cerevisiae*, як пробіотичного препарату, недоцільно з огляду на відсутність позитивного впливу на мікрофлору кишечника молодняку перепелів та можливі негативні побічні явища (тенденція до фунгемії).

В И С Н О В К И

1. Згодовування перепелам біомаси дріжджів *S. cerevisiae* (1 % від маси раціону) приводить до зростання кількості клітин дріжджів та грибків у складі мікрофлори кишечника перепелів.

2. Пробіотик «Байкал» покращує склад мікрофлори перепелів у 21-добовому віці, проте тривале його використання у раціоні (2 місяці) знижує у мікробіоценозі кишечника вміст кишкової палички з нормальною ферментативною активністю.

Перспективи подальших досліджень. Застосування пробіотиків у годівлі птиці необхідне і економічно обгрунтоване саме через порушення оптимального складу мікрофлори кишечника при застосуванні антибіотиків, вакцинації, зміні складу раціону та дії інших чинників. Тому подальші роботи будуть спрямовані на створення нових пробіотиків на основі дріжджів, які б не викликали негативних явищ, встановлених у представленій роботі, а забезпечували здоров'я та повноцінне живлення птиці.

ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ЯПОНСКИХ ПЕРЕПЕЛОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ДОБАВОК

*М. В. Каминская, Г. В. Колиснык, Ю. В. Кулай, Н. И. Борецкая, Н. И. Цепко,
С. В. Гураль, Ю. В. Небиловський, Г. И. Нечай*

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье приведено сравнительную характеристику влияния выпаивания пробиотика «Байкал» ЭМ-1-У и скармливания биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на состав микрофлоры кишечника японских перепелов. Установлен положительный эффект пробиотика «Байкал» на микробиоценоз прямой кишки 21-суточных перепелов, который проявлялся увеличением общего количества кишечной палочки за счет лактозоположительных штаммов и уменьшением количества кокковых форм. В группе птиц с использованием биомассы дрожжей достоверных изменений не установлено, наблюдалась тенденция к увеличению количества стрептококков, стафилококков и грибков. При использовании пробиотика «Байкал» длительное время (на протяжении двух месяцев) в содержимом кишечника возросло содержание слабоферментирующих штаммов кишечной палочки до 10 % от общего количества микроорганизмов.

THE CHANGE OF INTESTINAL MICROFLORA OF JAPANESE QUAIL AT THE PROBIOTICS USING

*M. V. Kaminska, H. V. Kolisnyk, Yu. V. Kulay, N. I. Boretska, N. I. Tsepko, S. V. Hural,
Yu. V. Nebylovskij, H. I. Netchai*

S U M M A R Y

The comparative characteristic of the probiotic «Baykal» EM-1-U and yeast *Saccharomyces cerevisiae* biomass effect on the microflora's composition of Japanese quail was presented in this article. The positive effect of probiotic «Baykal» on the 21-daily quail's rectum microbiocenosis was established. The *E. coli*'s total amount due to lactate(+)-strains increased and the coccus forms total amount was diminishing. The reliable changes in the quail group with yeast biomass were not set. But the tendency to increasing of streptococcus, staphylococcus and fungi amount was showed. The long time using (two month) of probiotic «Baykal» went to raising of slowly-fermenting *E. coli*'s strains (to 10 % of the microorganism's general amount).

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Rolfe R. D. Interactions among microorganisms of the indigenous intestinal flora and their influence on the host [Text] / Rolfe R. D. // Rev Infect Dis. — 1984. — V.6, Suppl 1. — P. 73–79.
2. Антипов В. А. Использование пробиотиков в животноводстве // Ветеринария. — 1999. — № 4. — С.55-58.
3. Смирнов В. В. Пробиотики на основе живых культур микроорганизмов / Смирнов В. В., Коваленко Н. К., Подгорский В. С. // Мікробіол. журн. — 2002. — Т. 64, № 4. — С. 62–79.
4. Харитонова Л. А. Формирование микрoэкологии кишечника и способы коррекции нарушений микробиоценоза у детей раннего возраста / Харитонова Л. А. // Педиатрия. — 2007. — № 2. — С. 108–113.
5. Камінська М. В. Зміни у видовому складі мікробіоценозу кишечника щурів при згодовуванні біомаси дріжджів *Sacharomyces cerevisiae* та *Phaffia rhodozyma* / Камінська М. В. // Біологія тварин. — 2007. — Т.9, № 1–2. — С. 199–202
6. Красноголовец В. Н. Дисбактериоз кишечника / Красноголовец В. Н. — М. : Медицина, 1989. — 208 с.

Рецензент: провідний науковий співробітник лабораторії живлення овець та вовно утворення, к. с.-г. н, с. н. сп. Гавриляк В. В.