

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЖИТОМИРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРОЕКОЛОГІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

Факультет ветеринарної медицини
Кафедра мікробіології, фармакології та епізоотології

Кваліфікаційна робота на правах рукопису

Демчук Юліанни Сергіївни

УДК 619:636.7:591.436.087.7

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

«Вплив пробіотику «Імунобактерин-D» на клініко-гематологічні показники
собак»

211 «Ветеринарна медицина»

Подається на здобуття освітнього ступеня «Магістр»

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на
відповідне джерело.

Демчук Ю.С.

Керівники роботи:

Рибачук Жанна Володимирівна

доцент кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології

кандидат ветеринарних наук, доцент

Галатюк Олександр Євстафійович

завідувач кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології

доктор ветеринарних наук, професор

Житомир – 2020

Анотація

«Вплив пробіотику «Імунобактерин-D» на клініко-гематологічні показники собак»

Ю. С. Демчук

Кваліфікаційна робота на здобуття освітнього ступеня магістра за спеціальністю 211 – ветеринарна медицина.- Житомирський національний агроекологічний університет, Житомир, 2020

В роботі представлені результати використання ферментно-пробіотичної добавки «Імунобактерин-D» собакам породи німецька вівчарка. Встановлено, що включення імунобакетрину-D до вранішньої кормової даванки в дозі 1 грам на тварину, один раз на добу протягом 14 діб обумовлює позитивний вплив на організм собак. А саме достовірне ($P \leq 0,001$) зменшення активності аланін-амінотрансферази в сироватці крові собак дослідної групи в порівнянні з показниками інтактної групи із $24,86 \pm 1,45$ до $18,93 \pm 1,8$ Од/л – через 14 діб. Протягом наступного спостереження (до 35 діб) тенденція зменшення збереглася. Зареєстровано зменшення активності у 5,2 разів гамаглутамілтранспептидази через 14 діб після застосування ферментно-пробіотичної добавки. При цьому у сироватці крові тварин контрольної групи зменшення активності ГГТП встановлено лише у 1,9 рази. Достовірних змін у активності лужної фосфатази в сироватці крові собак дослідної і контрольної груп не зареєстровано. Зменшення активності АСТ, АЛТ та ГГТП у сироватці крові собак, які поїдали із кормом «Імунобактерин-D» обумовлено зменшенням токсичного навантаження печінки через активне розмноження симбіотичної мікрофлори та пригнічення життєдіяльності патогенної мікрофлори кишечника. Зареєстрували, що у тварин дослідної групи перед включенням у раціон «Імунобакетрину-D» в сироватці крові було достовірно ($P \geq 0,001$) більше іонів кальцію, але протягом наступного місяця спостереження, його кількість зменшилась і була майже ідентичною кількості у собак контрольної групи.

Ключові слова: Імунобактерин-D, собаки, сироватка крові, кальцій, АЛТ.

Effect of Immunobacterin-D on some clinical and hematological parameters of
dogs' blood

Yu. S. Demchuk

Qualifying work for a master's degree in specialty 211 - veterinary medicine. – Zhytomyr National Agroecological University, Zhytjmyr

The results of the use of the enzyme-probiotic supplement are presented in the article "Immunobacterin-D" German Shepherd breed dogs. It is found that the inclusion drug to the morning feed dose of 1 gram per animal, once per day for 14 days causes a positive effect on the body of dogs. Namely reliable ($P \leq 0,001$) decrease in alanine aminotransferase activity in dog serum of the experimental group compared with indicators of intact group from $24,86 \pm 1,45$ to $18,93 \pm 1,8$ UD after 14 days. During the next observation (up to 35 days) the trend the decrease has been maintained. A decrease in 5.2-fold activity of gamaglutamyltranspeptidase 14 days after the use of the enzyme-probiotic supplement was reported. In the serum of animals of the control group, the decrease in the activity of GGTP was found only 1.9 times. No significant changes in the activity of alkaline phosphatase in the serum of dogs in the experimental and control groups were reported. We believe that such indicators of GGTP activity are indicative of intrahepatic bile stasis in the liver of animals. The decrease in the activity of AST, ALT and GGTP in the serum of dogs who ate with the feed "Immunobacterin-D" is due to a decrease in the toxic load of the liver due to active reproduction of symbiotic microflora and protease activity and inhibition of vital activity of pathogenic microflora, phenol, cresol (formed by phenylalanine and tyrosine microflora) and scatol and indole (synthesized from tryptophan). Also, it was reported that serum animals had significantly ($P \leq 0,001$) more calcium ions before being included in the immunobacterin-D diet, but within the next month of observation, their numbers decreased and were almost identical to those of control dogs.

Ключові слова: Immunobacterin-D, dogs, serum, calcium, ALT.

ЗМІСТ

Анотація	2
ЗМІСТ	4
ВСТУП	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Характеристика деяких корисних бактерій	7
1.2. Визначення, класифікація та показання до застосування пробіотиків	9
1.3. Дисбактеріоз - генезис	10
2. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	13
2.1 Матеріали та методи	13
2.2 Характеристика навчальної лабораторії кінлогії ЖНАЕУ	14
2.3. Характеристика ферментно-пробіотичної добавки «Імунобакетрин-D» від заводу виробника	115
2.4 Зміна деяких діагностичних поазників функціонального стану печінки собак за використання ФПД «Імунобакетрин-D»	17
2.5. Клінічний прояв фармакологічної дії у собак ФПД «Імунобакетрин-D»	23
Аналіз і узагальнення результатів власних досліджень	25
ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ	27
СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	28
ДОДАТКИ	29

ВСТУП

З початку 21 століття відомо багато фактів про роль корисних мікроорганізмів у організмі людини [Глобальные практические рекомендации Всемирной Гастроэнтерологической Организации Пробиотики и пребиотики (2017), Мікрофлора кишечника та Імунітет: Нерозривний зв'язок, Субботін В. В. та Данилевська Н. В. (2002), Калініченко С.В. (2013), Ткаченко Е.И. (2010), Allen L. Laskin зі співавторами (2006), Hentges D. (1986), Hill С.зі співавторами (2014), Hungin А.Р. зі співавторами (2013), Quigley ЕМ (2011)]. Проводились дослідження щодо вивчення мікрофлори кишечника собак різних вікових груп та деяких видів сільськогосподарських тварин [Похилько Ю.М., Кравченко Н.О (2018), Смирнов В.В., Сорокулова И.Б, Пинчук И.В. (2001)]. Усі літературні джерела засвідчують важливість певних видів бактерій товстого кишечника у забезпеченні резистентності макроорганізму.

Субботін В. В. та Данилевська Н. В. (2002) опублікували, що стабілізація індигенної мікрофлори кишечника у собак відбувається протягом перших 20 діб життя і незначно змінюючись, утримується такою до 5 річного віку. Облігатна мікрофлора представлена біфідобактеріями, бактероїдами, лактобакетріями, лактозопозитивною кишковою паличкою і ентерококами [Смирнов В.В., Сорокулова И.Б, Пинчук И.В. (2001)].

Тому питання утримання та відновлення мікробного пейзажу кишечника, як основа профілактики розвитку інфекційних хвороб є актуальним для працівників ветеринарної медицини і враховується при складанні схем лікування.

Проведення біотерапії, із використання пробіотичних препаратів, для профілактики порушень мікробіоценозу тварини є актуальним питанням для ветеринарної медицини та заводчиків [Floch МН et al. (2015)].

Мета роботи – виявити зміни активності деяких ферментів та вмісту кальцію в сироватці крові собак під час згодовування «Імунобактерину-D».

Завдання роботи: 1. Дослідити зміни активності амінотрансфераз та лужної фосфатази у сироватці крові собак дослідної та контрольної груп після включення до раціону ФПД «Імунобактерин-D».

2. Описати зміни вмісту іонів кальцію та фосфору собак дослідної та інтактної груп, протягом згодовування ФПД

3. З'ясувати зміни вмісту загального білірубину у сироватці крові собак обох дослідних груп.

Об'єкт дослідження: собаки.

Предмет дослідження – результати дослідження деяких біохімічних показників крові собак контрольної та дослідної груп, які утримувались у навчальній лабораторії кінології ЖНАЕУ.

Методи дослідження – біохімічні та статистичні.

Опубліковані праці: 1. Рибачук Ж. В., Галатюк О. Є., Демчук Ю. С., Антонюк А. А. Зміна деяких діагностичних показників функціонального стану печінки у собак за використання ФПД «Імунобактерин-D». *Вісник ПДАА*. 2020. № 1. С. 111–111.

2. Стелюта А. Г., Демчук Ю. С., Рибачук Ж. В. Вплив ферментно-пробіотичної добавки «Імунобакетрин-D» на рівень кальцію і фосфору у крові собак. *Наукові здобутки студентської молоді у ветеринарії* : Матеріали наук.-практ. конф. магістрів та бакалаврів, Вип. 9, Житомир, 29 січня 2018 р. Житомир, 2018. С. 95–97.

Отримані результати проведених досліджень дозволяють рекомендувати ФПД «Імунобактерин-D» для включення у раціон собак та схеми лікування тварин із метою відновлення мікробного пейзажу кишкової мікрофлори та прискорення відновлення функції печінки.

Робота містить розділи: ВСТУП, ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ, РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ, ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ, СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ ТА ДОДАТКИ і виконана на 28 сторінках друкованого тексту.

ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ

1. Зареєстровано динамічне, достовірне ($P \leq 0,001$) зменшення активності АЛТ (із $20,72 \pm 1,6$ Од/л до $13,20 \pm 0,6$ Од/л) та коефіцієнта Де Рітиса (на 16%) протягом 35 діб застосування ФПД «Імунобактерин-D», що вказує на покращення функціонування гепатоцитів і, відповідно, доцільність включення лікарського засобу у схеми лікування тварин із симптомами інтоксикації.
2. Включення до раціону собак породи німецька вівчарка «Імунобактерин-D» протягом 14 діб, обумовлює достовірне ($P \leq 0,001$) збільшення вмісту іонів кальцію у сироватці крові, в порівнянні із показниками тварин контрольної групи, що вказує на необхідність згодовування ФПД собакам із більшою потребою цього макроелементу.
3. Застосування «Імунобактерин-D» у дозі 1 грам один раз /добу протягом 35 діб, сприяє зменшенню вмісту білірубину на 16% в порівнянні із інтактною групою, а саме: у дослідній із $8,4 \pm 0,16$ мкмоль/л (до згодовування) до $5,3 \pm 0,45$ мкмоль /л та контрольній $8,4 \pm 0,16$ мкмоль/л (до згодовування) до $5,3 \pm 0,45$ мкмоль /л через 35 діб відповідно.
4. У собак дослідної групи через 14 діб згодовування лікарського засобу зареєстровано візуально покращення стану шерсті (скульптурність зникла, шерсть легко вичісувалась, реєстрували шовковистість і блиск) в порівнянні із тваринами контрольної групи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ветеринарна клінічна біохімія: підр./Левченко В.І. та ін. Біла Церква, 2002. 399 с.
2. Глобальные практические рекомендации Всемирной Гастроэнтерологической Организации Пробиотики и пребиотики. World Gastroenterology Organisation, 2017. URL: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-2017.pdf>
3. Дисбиоз: современные возможности профилактики и лечения./ Бондаренко В.М. и др. Москва. 1995. 235 с.
4. Макаренко В. В., Литвиненко В. М. Використання кормової добавки Імунобакетрин-Д за вирощування теля. Журнал НУБіП. 2018. URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/>
5. Мікрофлора кишечника та Імунітет: Нерозривний Зв'язок. Promedical: веб-сайт. URL: <http://promedical.com.ua/hvorobi/mikroflora-kishechnika-ta-immunitet-nerozrivnij-zv/>
6. Похилько Ю. М., Кравченко Н.О. Відновлення та корекція балансу мікробіоти шлунково-кишкового тракту кролів, порушеного внаслідок введення антибіотиків. Біологія. 2018. Т.10. №3 – 4. URL: <https://doi.org/10.31548/bio2018.03.003>
7. Свойства бактерий *Bacillus subtilis*. URL: <http://www.vetom.group.dn.ua/property.html>
8. Скрипник Н. И., Маслова А. С. Современные спорообразующие пробиотики в клинической практике. Український науково-практичний спеціалізований рецензований журнал. Сучасна гастроентерологія. Київ, 2009. №3 (47). С. 81 – 90.
9. Смирнов В. В. Сорокулова И. Б., Пинчук И. В. Бактерии рода *Bacillus* – перспективный источник биологически активных веществ. Мікробіол. журн. –2001 – Т. 63, № 1. – С.72 – 79.

10. Субботин В. В., Данилевская Н. В. Микрофлора кишечника собак: физиологическое значение, возрастная динамика, дисбактериозы, коррекция ч.2 Возрастная динамика микрофлоры кишечника собак «Ветеринар». 2002. №4. С. 14 – 19. URL: <https://www.allvet.ru/articles/mikroflora-kishechnika-sobak/>
11. Сучасний стан розробки та застосування пробіотичних, пребіотичних та синбіотичних препаратів / Калініченко С. В. та ін. *Annals of Mechnicov Institute*. 2013. №3. С. 5 – 12. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami_2013_3_3
12. Ткаченко Е. И., Сказыбаева Е. В., Авалуева Е. Б., Ситкин, С. И. *Saccharomyces boulardii* (Enterol) в практике терапевта и гастроэнтеролога. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. Санкт-Петербург, 2010. №1. С. 23-24.
13. Allen I. Laskin, Geoffrey M.Gadd, Sima Sariaslani /*Advances in applied microbiology*. Vol. 59 : San Diego. 2006. 253 p. doi: 10.1016/S0065-2164(06)59001-X
14. Allen, S. J., Okoko, B., Martinez, E., Gregorio, G., and Dans, L. F.). Probiotics for treating infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst. Rev.*2,2004, CD003048, DOI: 10.1002/14651858.CD003048.pub2 PubMed, PMID: 15106189
15. Bernalda Aponte G, Bada Mancilla CA, Carreazo NY, Rojas Galarza RA. Probiotics for treating persistent diarrhoea in children. *Cochrane Data base Syst Rev* 2013. Vol.8. doi:10.1002/14651858.CD007401.pub3. PubMed PMID: 23963712.
16. Bindels LB, Delzenne NM, Cani PD, Walter J. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015. Vol. 12. doi: 10.1038/nrgastro.2015.47. Epub 2015 Mar 31. PubMed PMID: 25824997
17. Burton, J. P., Cadieux, P., and Reid, G. Improved understanding of the bacterial vaginal microflora of women before and after probiotic instillation. *Appl Environ Microbiol*. 2003 Jan; 69(1): 97–101. doi: 10.1128/AEM.69.1.97-101.2003. PMCID: PMC152440. PMID: 12513982.

18. Ducle H. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use [Text] / H. Ducle, H.A. Hong, T. M. Barbosa, A. O. Henriques, S. M. Cutting // *Appl. And Environ. Mikrobiol.* – 2004. – V.70. №4. P. 2161 – 2171.
19. Floch MH, Walker WA, Sanders ME, Nieuwdorp M, Kim AS, Brenner DA, et al. Recommendations for probiotic use – 2015 update: proceedings and consensus opinion. *J Clin Gastroenterol* 2015;49 Suppl 1:S69–73. doi: 10.1097/MCG.0000000000000420. PubMed PMID: 26447969
20. Fuller R. The importance of epithelial attachment in colonization of the gut by bacteria. // *Mikrobiol. Therapy*, 1984. – vol. 14
21. Guslandi, M., Giollo, P., and Testoni, P. A. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003 Jun;15(6):697-8. DOI: 10.1097/00042737-200306000-00017. PubMed PMID: 12840682
22. Hentges D. The protective function of the indigenous intestinal flora. // *Pediatr. Infect. Dis.*, 1986. – vol 5. – Suppl. 1
23. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:506–14. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66. Epub 2014 Jun 10. PubMed PMID: 24912386
24. Hungin AP, Mulligan C, Pot B, Whorwell P, Agréus L, Fracasso P, et al. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms in clinical practice – an evidence-based international guide. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:864–86. doi: 10.1111/apt.12460. Epub 2013 Aug 27. PubMed PMID: 23981066; PubMed Central PMCID: PMC3925990
25. Isolauri, E., Arvola, T., Sutas, Y., Moilanen, E., and Salminen, S. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy.* 2000 Nov;30(11):1604–10. DOI: 10.1046/j.1365-2222.2000.00943.x. PubMed PMID: 11069570

26. Kalliomaki, M., Salminen, S., Poussa, T., Arvilommi, H., and Isolauri, E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo controlled trial. *Lancet*. 2003 May 31;361(9372):1869-71. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)13490-3. PubMed PMID: 12788576
27. Maya Raman/ Probiotics_and_bioactive_carbohydrates in colon cancer management. Springer: India, 2016. 124 p. doi: 10.1007/978-81-322-2586-7
28. Pokchilenco V. D. Probiotics on the basis of sporeforming bacteria and their safety (literature review) [Electronic resours] / V. D. Pokchilenco, V. V. Pereygin // *Chemical and biological safety*. – 2007. №2-3 (32-33). – P. 20 41. – Access mode: https://www.cbsafety.ru/rus/saf_32_2f.pdf
29. Quigley EM. Therapies aimed at the gut microbiota and inflammation: antibiotics, prebiotics, probiotics, synbiotics, anti-inflammatory therapies. *Gastroenterol Clin North Am* 2011;40:207–22. doi: 10.1016/j.gtc.2010.12.009. PubMed PMID: 21333908.
30. Uccello M, Malaguarnera G, Basile F, D’agata V, Malaguarnera M, Bertino G, Vacante M, Drago F, Biondi A . Potential role of probiotics on colorectal cancer prevention. *BMC Surg* 12:S35 2012;12 Suppl 1:S35. doi: 10.1186/1471-2482-12-S1-S35. Epub 2012 Nov 15.
31. Vorobjeva LI, Abilev SK (2002) Antimutagenic properties of bacteria: review. *Appl Biochem Microbiol* 38:97–107 *Prikl Biokhim Mikrobiol*. 2002 Mar-Apr; 38(2):115-27.
32. Weston, S., Halbert, A., and Prescott, S. L. Effects of probiotics on atopic dermatitis : A randomised controlled trial. *Arch Dis Child*. 2005 Sep; 90(9):892-7. Epub 2005 Apr 29
33. Wollowski I, Rechkemmer G, Pool-Zobel BL Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. · *Literature Review in American Journal of Clinical Nutrition* 73(2 Suppl):451S-455S · March 2001 DOI : 10.1093/ajcn/73.2.451s · PubMed PMID: 12172984
34. Yan F, Liu L, Dempsey PJ, Tsai YH, Raines EW, Wilson CL, Cao H, Cao Z, Liu L, Polk A . *Lactobacillus rhamnosus* GG-derived soluble protein,

stimulates ligand release from intestinal epithelial cells to trans activate epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem.* 2013 Oct 18;288(42):30742-51. doi: 10.1074/jbc.M113.492397. Epub 2013 Sep 16. PubMed PMID : 24043629

35. Zhong L, Zhang X, Covasa M . Emerging roles of lactic acid bacteria in protection against colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 20:7878–7886. *World J Gastroenterol.* 2014 Jun 28;20(24):7878-86. doi: 10.3748/wjg.v20.i24.7878. PubMed PMID : 24976724