

УДК 636.2.053:636.087.8(043.3)

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОРМОВОЙ  
ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ ПРОДУКТОВ МЕТАБОЛИЗМА  
ПРОБИОТИЧЕСКИХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В  
ОПЫТАХ IN VIVO**

**В. Ю. Овсец<sup>1</sup>, А. Н. Михалюк<sup>1</sup>, А. А. Сехин<sup>1</sup>, Д. В. Воронов<sup>1</sup>,  
Н. А. Головнева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,

г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by);

<sup>2</sup> – Институт микробиологии НАН Беларуси

г. Минск, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 220141,

г. Минск, ул. акад. В. Ф. Купревича, 2; e-mail:

microbio@mbio.bas-net.by)

**Ключевые слова:** кормовая добавка на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий, лабораторные животные, эффективность.

**Аннотация.** В результате проведенных исследований установлено, что введение в рацион крыс кормовой добавки на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий способствует активизации гемопоэза и окислительно-восстановительных реакций организма, что выразилось в повышении концентрации эритроцитов на 6,1 % и гемоглобина на 11,7 % в сравнении с контролем, повышении неспецифической и специфической защиты организма, нормализации функционального состояния печени (дезаминирующей функции) и почек (способности выводить продукты азотистого обмена), что выразилось в снижении концентрации в сыворотке крови креатинина на 23,8 % и мочевины на 19,4 %, а также стимуляции роста и развития животных.

## EFFICIENCY OF USING A FEED ADDITIVE BASED ON METABOLIC PRODUCTS OF PROBIOTIC LACTIC BACTERIA IN IN VIVO EXPERIMENTS

A. N. Mikhalyuk<sup>1</sup>, V. Yu. Ovseev<sup>1</sup>, A. A. Sekhin<sup>1</sup>, D. V. Voronov<sup>1</sup>,  
N. A. Golovneva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

<sup>2</sup> – Institute of microbiology

Minsk, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 220141, Minsk, st. of the academician V. F. Kuprevich, 2; e-mail: microbio@mbio.bas-net.by)

**Key words:** *feed additive based on metabolic products of probiotic lactic acid bacteria, laboratory animals, efficiency.*

**Summary.** *as a result of the studies, it was found that the introduction of a feed additive based on the metabolic products of probiotic lactic acid bacteria into the diet of rats contributes to the activation of hematopoiesis and redox reactions of the body, which resulted in an increase in the concentration of erythrocytes by 6,1 % and hemoglobin by 11,7 % in comparison with the control, an increase in nonspecific and specific body defense, normalization of the functional state of the liver (deaminating function) and kidneys (the ability to excrete nitrogen metabolism products), which resulted in a decrease in the concentration of creatinine in the blood serum by 23,8 % and urea by 19,4 %, as well as stimulation of growth and development of animals.*

*(Поступила в редакцию 01.06.2023 г.)*

**Введение.** В настоящее время важнейшей задачей для развития АПК является создание и использование новейших, действенных и безвредных кормовых добавок, способных обеспечить нормальный рост и развитие сельскохозяйственных животных и птицы [2]. Отечественные и зарубежные исследования свидетельствуют о положительной роли пробиотиков, пребиотиков, а также синбиотических комплексов (синбиотиков) в профилактике и терапии многих заболеваний ЖКТ, а также их благоприятное влияние на микрофлору кишечника, что способствует активизации роста и развития животных, а также повышению резистентности их организма [4].

На современном этапе развития в области кормовых добавок на основе пробиотических микроорганизмов активно разрабатывается концепция метабиотиков или постбиотиков. Базовой формой данных кормовых добавок является бесклеточная культуральная жидкость, оставшаяся после отделения биомассы микроорганизмов и характеризующаяся содержанием различных биологически активных соединений (аминокислоты, витамины, холин, органические кислоты, летучие жирные

кислоты, бактериоцины, стероидные вещества и другие) в усвояемой форме и физиологически адекватном количестве [3]. Необходимо отметить, что по отношению к клеточной форме метабиотики действует быстрее, без стадий размножения и адаптации выживших бактерий, при этом, не снижая свою биологическую активность и являясь более безвредными в отличие от живых бактерий [1].

**Цель работы** – испытать эффективность кормовой добавки на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий на лабораторных животных в опытах *in vivo*.

**Материал и методика исследований.** Изучение эффективности использования кормовой добавки на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий проводили на беспородных белых крысах с начальной массой тела 150-153 г. Для проведения опыта по принципу пар-аналогов подбирали клинически здоровых крыс, которые были распределены в 2 группы (контрольную и опытную) по 10 особей в каждой. Опыт проводился согласно приведенной схеме (таблица 1). Животных содержали в пластиковых клетках в условиях искусственного освещения при температуре 20-22 °С и относительной влажности 60-65 % на подстилке из древесных стружек, простерилизованных в сухожаровом шкафу. Животные получали стандартный рацион вивария и воду. Кормление производили один раз в день в утренние часы, замену подстилки – три раза в неделю. За 12 часов до забоя животных лишали пищи. Контрольные животные получали лабораторный корм, крысам опытной группы выпаивали кормовую добавку на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий в свободном доступе, чередуя с питьевой водой. Скармливание крысам общего рациона и кормовой добавки осуществляли в течение 14 суток с постоянным наблюдением за лабораторными объектами.

Таблица 1 – Схема опыта

Группы	Кол-во животных в группе, гол.	Продолжительность опыта, дней	Условия проведения опыта
Контрольная	10	14	ОР (основной рацион)
Опытная	10	14	ОР + кормовая добавка на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий

Контроль за сохранностью и падежом осуществляли ежедневно. Во время эксперимента учитывались следующие показатели: внешний вид, поведение, потребление корма и воды, изменение массы тела, морфологические и биохимические показатели крови, патоморфологические изменения органов.

В конце опыта лабораторные животные подвергались эвтаназии, путем декапитации и вскрытию. При вскрытии органы выделялись единым органокомплексом с последующим взвешиванием отдельных органов и визуальной оценкой их состояния.

Комплекс методов исследований и контроля функционального состояния организма, использованных в данной работе, подобрали так, чтобы можно было оценить в динамике становление и границы функциональных возможностей организма.

Использовали общие (основные) и дополнительные лабораторные методы исследований.

Гематологические показатели определяли на гематологическом анализаторе MYTHIC 18 – 3 diff (ORPHEE MEDICAL, Швейцария). Все биохимические показатели сыворотки крови крыс определяли на биохимическом анализаторе DIALAB AutolyzerISE. Сыворотку крови получали выдерживанием крови в течение двух часов при комнатной температуре с последующим отделением свернувшейся крови от стенки пробирки стеклянной палочкой и центрифугированием в течение 10 мин при 3000 мин<sup>-1</sup>. Анализатор осуществляет работу со всеми типами биохимических реакций. Диапазон измерения оптической плотности 340-750 нм с шириной щели 10 нм. Пробы и реагенты устанавливаются на борт анализатора, затем происходит автоматическое внесение всех необходимых компонентов реакции, согласно введенной программе, измерение оптической плотности в нужные интервалы времени и автоматический расчет концентрации определяемого компонента.

Биометрическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютера в программе Microsoft Excel методами вариационной статистики. Все результаты исследований в работе приведены к Международной системе единиц СИ. Определены средние арифметические каждого вариационного ряда, стандартные ошибки средней, степень вероятности нулевой гипотезы по сравнению с контролем путем вычисления критерия Стьюдента-Фишера. При  $P < 0,05$  различия средних арифметических сравниваемых вариационных рядов считались достоверными.

**Результаты исследований и их обсуждение.** В результате исследований установлено, что использование кормовой добавки на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий не вызвало изменений в клиническом статусе и этологии крыс. Гибели лабораторных животных в ходе эксперимента не выявлено.

Подопытные животные хорошо переносили кормовую добавку на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий, они были клинически здоровы в течение всего эксперимента, не

отмечалось нарушений в поведении, приеме корма и воды, аналогично контрольной группе. Животные в обеих группах имели хорошую упитанность и удовлетворительное общее состояние. Подопытные животные были подвижны и активны, шерстный покров был гладким и отличался характерным блеском, слизистые оболочки бледно-розового цвета.

При патологоанатомическом исследовании внутренних органов животных каких-либо дегенеративных изменений в их структуре не выявлено. Внутренние органы располагались анатомически правильно, жидкость в плевральной и брюшной полостях отсутствовала, цвет органов и тканей соответствовал норме. Просвет трахеи и бронхов свободен, ткань легких имела розовый цвет. Слизистая оболочка, выстилающая желудок и кишечник после использования кормовой добавки, была без видимых изъявлений и кровоизлияний, серо-розового цвета. Печень, поджелудочная железа, почки, сердце экспериментальных крыс были в норме, как и у контрольных животных.

Результаты, полученные при изучении влияния кормовой добавки на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий на показатели интенсивности роста лабораторных животных, отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Масса тела подопытных крыс в период опыта ( $M \pm m$ )

Группы	Живая масса, г	
	В начале опыта	В конце опыта
Контрольная	149,91 ± 3,79	174,31 ± 5,35
Опытная	152,48 ± 3,55	191,31 ± 8,83*

Анализ данных, приведенных в таблице 2, свидетельствует о том, что введение в рацион лабораторных крыс кормовой добавки на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий, способствовало увеличению их массы тела, что свидетельствует о более интенсивном течении обменных процессов в организме. Так, в начале исследований масса тела крыс контрольной и опытной групп была примерно одинаковой и составляла 149,91 ± 3,79 - 152,48 ± 3,55 г, к концу исследований масса тела крыс опытной группы превышала массу тела крыс контрольной группы на 9,7 % ( $P < 0,05$ ).

В ходе исследований установлено, что использование кормовой добавки на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий не оказало существенного влияния на весовые показатели некоторых внутренних органов экспериментальных животных (таблица 3).

Таблица 3 – Масса некоторых внутренних органов крыс, г ( $M \pm m$ )

Группы животных	Показатели				
	Масса сердца	Масса легких	Масса печени	Масса почек	Масса селезенки
Контрольная	0,80 ± 0,06	1,82 ± 0,22	8,87 ± 0,37	1,75 ± 0,08	1,26 ± 0,10
Опытная	0,82 ± 0,03	2,05 ± 0,21	9,14 ± 0,58	1,81 ± 0,06	1,23 ± 0,18

Более высокая масса отдельных органов у животных опытной группы в сравнении с контрольной группой связана с большей массой самих животных, что логично. Поэтому более точным критерием оценки влияния кормовой добавки на весовые показатели некоторых внутренних органов является сравнительный анализ их индексов. Индекс внутренних органов – это процентное отношение массы органа к массе тела. Сравнительный анализ индексов внутренних органов экспериментальных животных выявил уменьшение индексов печени и почек у крыс опытной группы по сравнению с аналогичными показателями животных контрольной группы, что также указывает на более интенсивное течение метаболических процессов (таблица 4).

Таблица 4 – Индексы внутренних органов лабораторных животных, % ( $M \pm m$ )

Группы животных	Показатели				
	Индекс сердца	Индекс печени	Индекс почек	Индекс легких	Индекс селезенки
Контрольная	0,45 ± 0,09	5,09 ± 0,29	1,01 ± 0,10	1,03 ± 0,06	0,72 ± 0,05
Опытная	0,43 ± 0,05	4,70 ± 0,27	0,93 ± 0,06	1,06 ± 0,09	0,58 ± 0,04*

Известно, что при высоком уровне обмена веществ животные имеют меньшие энергетические резервы в печени и относительно меньшую массу этого органа. Кроме того, индекс печени отражает ее функцию накопления быстро мобилизуемых питательных веществ.

Биохимический анализ крови информативен для оценки состояния обмена веществ (липидов, белков, углеводов) в организме. Биохимические показатели сыворотки крови испытуемых крыс отражены в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты биохимического исследования сыворотки крови крыс ( $M \pm m$ )

Показатели	Группа животных	
	Контрольная	Опытная
1	2	3
Общий белок, г/л	57,22 ± 1,83	60,08 ± 1,08
Альбумины, г/л	33,68 ± 1,43	34,33 ± 1,64
Глобулины, г/л	23,54 ± 1,12	25,05 ± 1,86*
A/T-соотношение, ед.	1,43	1,33
Са, ммоль/л	1,83 ± 0,09	1,97 ± 0,08
P, ммоль/л	1,67 ± 0,14	1,51 ± 0,12
Са/P-соотношение, ед.	1,1	1,3

Продолжение таблицы 5

1	2	3
Железо, мкмоль/л	95,08 ± 7,16	100,22 ± 8,70
Амилаза, ед./л	465,50 ± 13,00	478,17 ± 12,73
Креатинин, мкмоль/л	99,83 ± 7,98	76,03 ± 5,36*
Глюкоза, ммоль/л	5,20 ± 0,49	4,83 ± 0,39*
Холестерин, ммоль/л	2,25 ± 0,12	2,27 ± 0,09
АлАТ, ед./л	156,83 ± 13,21	114,02 ± 7,18**
АсАТ, ед./л	136,10 ± 9,45	167,83 ± 5,70*
Билирубин, мкмоль/л	15,38 ± 0,44	9,10 ± 0,47*
Магний, ммоль/л	0,85 ± 0,05	0,83 ± 0,04
Мочевина, ммоль/л	4,98 ± 0,18	4,17 ± 0,25*
Щелочная фосфатаза, ед./л	215,33 ± 21,25	145,33 ± 17,35**

Белковый обмен представлен несколькими показателями: общий белок, его фракции (альбумины, глобулины) и их соотношение. Согласно полученным данным, количество общего белка у животных опытной группы оказалось выше на 4,8 %. Это указывает на оптимизацию белкового обмена у подопытной группы крыс. В связи с тем, что уровень альбуминовой фракции также был выше у подопытной группы животных, чем у контрольных, то рост общего белка происходил за счет синтеза его в печени. Разница между группами экспериментальных животных также была обнаружена по такому показателю, как глобулины. Их количество достоверно выше в крови у подопытных крыс, чем у контрольных, на 8,6 %. Глобулины выполняют иммунную функцию (антитела), обеспечивают нормальное свертывание крови (фибриноген), а также представлены ферментами, гормонами и белками-переносчиками разнообразных биохимических соединений. Усиление синтеза глобулинов может происходить при наличии воспалительного процесса после тканевых повреждений и/или в ответ на чужеродные антигены. У экспериментальных животных подобного явления не установлено, т. к. соотношение А/Г-фракции в пределах референтной величины.

Минеральный обмен в исследовании представлен следующими показателями: количество кальция, фосфора, железа, магния.

Количество кальция у контрольной группы животных ниже, чем у подопытной. Это может указывать на оптимальное усвоение данного минерала у последних. На оптимизацию минерального обмена у подопытной группы крыс указывает Ca/P-соотношение. Оно выгодно отличается у крыс, получавших метабиотик (1,3 ед. против 1,1 ед. у контроля). Такое явление подтверждает наличие нормального роста костной и хрящевой тканей. Железо – ключевой минерал для построения молекулы гемоглобина и целого ряда ферментов. У крыс подопытной группы его количество оказалось выше, чем у контрольной. Уровень магния был несколько ниже у подопытной группы, но разница

несущественная (около 2 %). В обеих группах – в пределах принятых референтных величин.

Креатинин и мочевины – интегральные показатели функционирования системы выделения (в первую очередь почек). У крыс подопытной группы количество креатинина оказалось ниже на 23,8 % ( $P < 0,05$ ), чем у контрольной. Это указывает на снижение «азотной» нагрузки благодаря применению метабіотика на организм. Количество мочевины также оказалось ниже у подопытных крыс, что подтверждает вышеуказанное предположение о меньшей токсической нагрузке.

В таблице представлено количество общего билирубина (без его фракций), однако у контрольных животных установили выраженное повышение его. Это может быть связано с гемолизом эритроцитов, с дисфункцией печени, с высокой белковой нагрузкой и др. Учитывая то, что в обеих группах количество эритроцитов, гемоглобина и гематокрита не было снижено (таблица 6), можно предполагать наличие более интенсивной белковой нагрузки и перманентного влияния фактора у контрольных крыс на печень. Данное предположение подтверждают такой показатель, как АЛТ. Он оказался выше у контрольных животных на 42,8 % ( $P < 0,01$ ). АсАТ у контроля был несколько ниже.

В печени щелочная фосфатаза связывается с эпителиальными клетками желчевыводящих путей и канальцевыми мембранами гепатоцитов. Различные заболевания гепатобилиарной системы могут привести к увеличению активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови в результате увеличения продукции фермента, солюбилизации мембран под действием солей желчных кислот. Также фермент может увеличиваться в крови при деминерализации костной ткани, конвульсиях, травмах мышц, стрессе и др. У контрольных животных данный параметр оказался выше на 32,5 % ( $P < 0,01$ ). Возможно, это связано с протекторным действием метабіотика на организм и оптимизацией роста костной ткани.

Существенно значимой разницы количества холестерина, амилазы и глюкозы между группами животных не установлено: параметры могут быть переменными в установленных пределах значений. Хотя стоит обратить внимание, что у крыс контроля уровень глюкозы был выше. Что может быть признаком стресса.

Нами также были определены некоторые параметры общего клинического анализа крови (таблица 6).



Таблица 6 – Гематологические показатели подопытных животных (M ± m)

Показатели	Группа животных	
	Контрольная	Опытная
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	5,45 ± 0,16	5,80 ± 0,18
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	14,62 ± 0,64	14,87 ± 0,86
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	323,83 ± 25,80	314,50 ± 29,15
Гемоглобин, г/л	134,00 ± 3,75	151,83 ± 3,47*
Гематокрит, %	36,13 ± 1,29	37,13 ± 0,97

Количество ключевых показателей «красной крови» оказалось выше у подопытных животных: эритроцитов – на 6,1 %, гемоглобина – на 11,7 % (P < 0,05), гематокрита – на 2,7 %. Поскольку нет признаков эксикоза (гиперальбуминемия, полицитемия), то увеличение выше указанных параметров доказывает оптимизацию функции красного костного мозга. Количество лейкоцитов и тромбоцитов было в пределах нормативных значений в обеих группах. Признаков воспаления, наличия агрессивных триггеров иммунной системы не выявили. Нарушение гемостаза также отсутствует.

**Заключение.** Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что введение в рацион крыс кормовой добавки на основе продуктов метаболизма пробиотических молочнокислых бактерий способствует активизации гемопоэза и окислительно-восстановительных реакций организма, что выразилось в повышении концентрации эритроцитов на 6,1 % и гемоглобина на 11,7 % в сравнении с контролем, повышении неспецифической и специфической защиты организма, нормализации функционального состояния печени (дезаминирующей функции) и почек (способности выводить продукты азотистого обмена), что выразилось в снижении концентрации в сыворотке крови креатинина на 23,8 % и мочевины на 19,4 %, а также стимуляции роста и развития животных.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко, В. М. Метаболитные пробиотики: механизмы терапевтического эффекта при микробиологических нарушениях / В. М. Бондаренко // Consilium Medicum. – 2005. – Т. 7, № 6. – С. 437-444.
2. Елисеева, Е. Н. Использование химиотерапевтических, пробиотических и иммуномоделирующих препаратов и дезинфектантов / Е. Н. Елисеева // Мат. VII Междун. ветеринарного конгресса по птицеводству. – М., 2011. – С. 117-119.
3. Инновационные биологически безопасные препараты для ветеринарии / А. Я. Самуйленко [и др.] // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2014. – № 2. – С. 45-46.
4. Пробиотики: вектор развития / И. Ю. Чичерин [и др.] // Практическая медицина. – 2012. – № 3 (58). – С. 185-193.