



УДК 619:636.02:636.08.003

Гістологічна, гістохімічна характеристика дванадцятипалої кишки курей-бройлерів за згодовування кормів з високим вмістом пробіотичної добавки

Г.І. Коцюмбас, А.К. Костинюк, О.В. Мисів, Ю.Я. Федик
galyna.kotsymbas@gmail.com, anastasija.kostunyk@gmail.com

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна*

У статті представлені результати гістологічних, гістохімічних досліджень слизової оболонки дванадцятипалої кишки курей-бройлерів, яким згодовували 36 діб поспіль комбікорм з пробіотичною добавкою «Probion forte» в дозі 100 г/кг. На 36 добу досліду по 10 курчат з кожної групи виводили з експерименту, проводили розтин і відбирали взірці дванадцятипалої кишки, які фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, рідині Карнуа з подальшою заливкою у парафін. Виготовляли гістозрізи, фарбували гематоксилін-еозином, за Східменом, Мак-Манусом.

Тривале згодовування птиці кормів з пробіотичною добавкою «Probion forte» в надмірній дозі 100 г/кг спричинило структурно-функціональні зміни у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки, що виразилось утворенням виродливих роздвоєних, широких ворсинок, зниженням вмісту глікозаміногліканів, що свідчило про дисфункцію ворсинок і відобразилось зниженням продуктивних показників птиці.

Ключові слова: *кури-бройлери, пробіотичні добавки, дванадцятипала кишка, ворсинки, крипти, келихоподібні клітини, гістоструктура, гістохімія.*

Гистологическая, гистохимическая характеристика двенадцатиперстной кишки кур-бройлеров при скармлевании кормов с высоким содержанием пробиотических добавок

Г.И. Коцюмбас, А.К. Костынюк, А.В. Мысив, Ю.Я. Федык
galyna.kotsymbas@gmail.com, anastasija.kostunyk@gmail.com

*Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина*

В статье представлены результаты гистологических, гистохимических исследований слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки кур-бройлеров, которым скармливали 36 суток подряд комбикорм с пробиотической добавкой «Probion forte» в дозе 100 г/кг. На 36 сутки опыта по 10 цыплят из каждой группы выводили из эксперимента, проводили вскрытие и отбирали образцы двенадцатиперстной кишки, которые фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, жидкостью Карнуа с последующей заливкой в парафин. Изготавливали гистосрезы окрашивали гематоксилин-еозином, по Сиддмен, Мак-Манус.

Длительное скармливание птице кормов с пробиотической добавкой «Probion forte» в чрезмерной дозе 100 г/кг привело к структурно-функциональным изменениям в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки, что выразилось образованием уродливых раздвоенных, широких ворсинок, снижением содержания гликозаминогликанов, что свидетельствовало о дисфункции ворсинок и отразилось снижением производительных показателей птицы.

Ключевые слова: *куры-бройлери, пробиотические добавки, двенадцатиперстная кишка, ворсинки, крипты, гистоструктура, гистохимия.*

Citation:

Kotsymbas, G., Kostynjuk, A., Mysiv, O., Fedyk, Yu. (2017). Histological, histochemical characteristics of duodenal intestine of hen-broilers for feed feeding with high content of probiotic supplements. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 19(77), 71–75.

Histological, histochemical characteristics of duodenal intestine of hen-broilers for feed feeding with high content of probiotic supplements

G. Kotsymbas, A. Kostynjuk, O. Mysiv, Yu. Fedyk
galyna.kotsymbas@gmail.com, anastasija.kostunyk@gmail.com

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyi,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010, Ukraine

The article presents results of histological, histochemical investigations of duodenal mucosa of broilers, which were fed 36 days in a row with were fed 36 days in a row with fodder mixed of probiotic supplements «Probion forte» in doses of 100 g/kg. At 36 day of the experiment 10 chickens from each group were taken out from the experiment, was performed autopsy and selected models of duodenum, which are fixed in 10% of solution neutral formalin, Karnua liquid, followed by pouring into paraffin. It was produced histological sections, were stained with hematoxylin-eosin, by Stidmen, McManus.

Prolonged feeding of poultry with probiotic supplements «Probion forte» in excessive dose of 100 g/kg has caused structural and functional changes in the mucosa of the duodenum, expressed the formation of ugly bifurcated broad villi and reflected a decrease in productive indexes of poultry.

Key words: chickens-broilers, probiotic preparations, duodenum, villi, crypts, goblet cells, histostructure, histochemistry.

Вступ

Кишечник птиці є одним з найважливіших відділів травної системи, у якому відбуваються складні фізіологічні, біохімічні процеси перетравлення та всмоктування поживних речовин. Стрес, порушення режиму та якості годівлі може спричинити стійкі зміни в кишечнику та негативно вплинути на загальний стан організму птиці (Pavlova et al., 2002; Samarcev et al., 2007).

Сьогодні при вирощуванні птиці широко використовують різноманітні пробіотичні кормові добавки, які містять живі мікроорганізми, що пов'язані з нормофлорою кишечнику. Застосування їх ґрунтується на можливості заселення кишечнику мікроорганізмів, які за рахунок антагоністичних властивостей, пригнічують ріст патогенних та умовно-патогенних бактерій (Malik and Panin, 2001; Lytvyn and Polishchuk, 2008).

Нами попередньо було встановлено, що при згодівуванні курам-бройлерам з кормом пробіотичної добавки «Probion forte» в дозі 1 г/кг і 0,5 г/кг в дванадцятипалій кишці вірогідно збільшувалась довжина ворсинок слизової оболонки, товщина стінки м'язової оболонки. Це вказує на інтенсифікацію процесів травлення слизовою оболонкою і більшу рухову активність м'язової оболонки та впливає на покращення обмінних процесів і зростання продуктивних показників птиці (Kotsymbas and Kostyniuk, 2012; Kotsymbas et al., 2012).

Разом з тим виникла потреба в оцінці безпеки застосування кормових добавок (толерантності), що включає визначення рівня «запасу безпечності», коли кормова добавка може використовуватись у більших дозах, ніж рекомендовано (Levytskyi, 2013; Levytskyi, 2015).

Тому метою нашої роботи було вивчити гістологічні, гістохімічні особливості слизової оболонки дванадцятипалої кишки курей-бройлерів, яким згодовували комбікорми з пробіотичною кормовою добавкою «Probion forte» в дозі 100 г/кг 36 діб поспіль.

Матеріал та методи дослідження

Дослід проводили на курчатах-бройлерах породи «Kobb-500» в умовах віварію. Було сформовано дві дослідні групи курей-бройлерів, масою тіла 37–40 г, по 10 голів у кожній. Птиця утримувалась на підлозі з вільним доступом до води та їжі. Курчатам-бройлерам контрольної групи (І група) згодовували комбікорм без пробіотичної добавки. Кури ІІ групи отримували комбікорм з пробіотичною добавкою «Probion forte» в дозі 100 г/кг корму поспіль 36 днів. На 36 добу досліду по 10 курчат з кожної групи зважували, виводили з експерименту, проводили розтин і відбирали шматочки дванадцятипалої кишки, фіксували у 10% р-ні нейтрального формаліну, рідині Карнуа, з подальшою заливкою у парафін. Зрізи виготовлялись на мікротомі МС-2 і фарбували: гематоксилином та еозином, альціановим синім, за Мак-Манусом (PAS-реакція) (Merkulov, 1961; Horalskyi et al., 2005). Мікроскопію та фотографування проводили за допомогою мікроскопа OLIMPUS CX-41 та морфометричної програми DP-SOFT.

Результати та обговорення

Кури-бройлери І групи були активними, добре поїдали корми, тимчасом як у курей ІІ групи відзначали періодичні розлади травлення, але загибелі серед них не спостерігали. Маса тіла курей в контрольній групі в кінці досліду становила $1661,7 \pm 69,2$, тимчасом як у птиці ІІ групи – $1420 \pm 51,3$ г, тобто була меншою на 15% порівняно з контрольною.

Макроскопічно слизова оболонка кишок курей-бройлерів контрольної та дослідної груп були подібними: світло-рожевими, вологими. За світлооптичного дослідження слизової оболонки контрольної групи ворсинки довгі, пальцеподібної форми, чітко контуровані, вільно розміщувались одна біля одної і були спрямовані у просвіт кишки (рис. 1). Циліндричний епітелій мав виражену облямівку (рис. 2). У стінці ворсинки між епітеліоцитами добре проглядались окремі лімфоцити.

Серед стовпчастих епітеліоцитів, які складали основну масу епітеліального пласту ворсинки, вирізнялись келихоподібні клітини та кишкові ендокриноцити. Келихоподібні, видовжено-грушевидної форми клітини розміщувались поодинокі і добре виявлялись на гістопрепаратах при фарбуванні за Східменом. Вони набували синього забарвлення, що вказувало на вміст у секреті келихоподібних клітинах глікозаміно-



Рис. 1. Ворсинки і крипти дванадцятипалої кишки курей контрольної групи. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

гліканів. На поверхні ворсинок також виділялось тоненька альціанофільна облямівка (рис. 3). У реакції за Мак-Манусом (PAS-реакція) – келихоподібні клітини набували малинового кольору (рис. 4). Утворення келихоподібними клітинами слизистого секрету, багатого глікозаміногліканами сприяло формуванню захисної біоплівки. У власній пластинці слизової оболонки проглядалися крипти видовженої форми.



Рис. 2. Ворсинки дванадцятипалої кишки курей контрольної групи, вистелені циліндричним епітелієм, з вираженою облямівкою. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

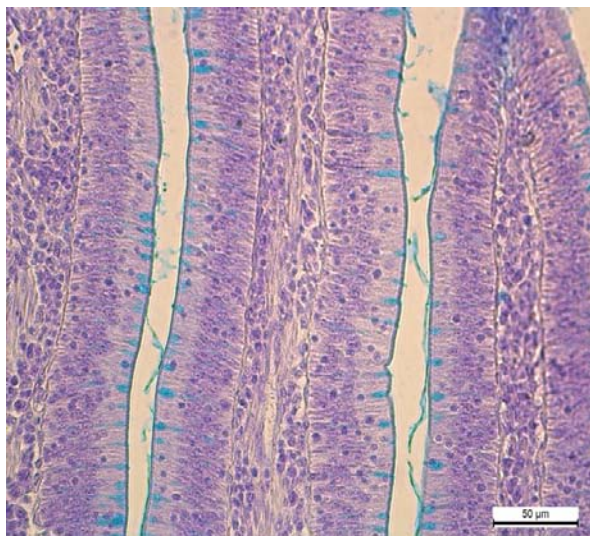


Рис. 3. Альціанофільні келихоподібні клітини та біоплівка ворсинок дванадцятипалої кишки курей контрольної групи. Східмен. Ок. 10, об. 40

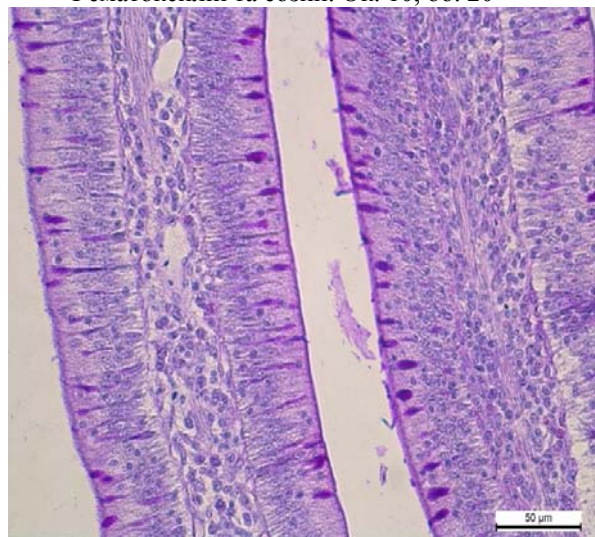


Рис. 4. PAS-позитивні келихоподібні клітини і поверхня ворсинок дванадцятипалої кишки курей контрольної групи. Мак-Манус. Ок. 10, об. 40

У дванадцятипалій кишці курей II групи, яким з кормом згодовували пробіотичну добавку «Probiol forte» в дозі 100 г/кг, на 36 добу досліду ворсинки, порівняно з контрольною групою були товстшими, коротшими, покрученими. Відзначали збільшення ширини ворсинок, потовщення власної пластинки слизової оболонки, збільшення кількості крипт (рис. 5). Відомо, що джерелом регенерації епітелію є стовпчасти епітеліоцити без облямівки, які містяться у криптах. Ймовірно, що проліферативна активність

цих клітин зумовила потовщення структур як власної пластинки слизової оболонки, так і епітеліального пласту ворсинок. У процесі збільшення ширини ворсинок зростала кількість стовпчастих епітеліоцитів та келихоподібних клітин. Сполучна тканина ворсинок даної групи птиці була густо інфільтрована лімфоцитами та плазматичними клітинами. Часто серед ворсинок виділялись роздвоєні або короткі та широкі, вкриті еозинофільною плівкою (рис. 6).

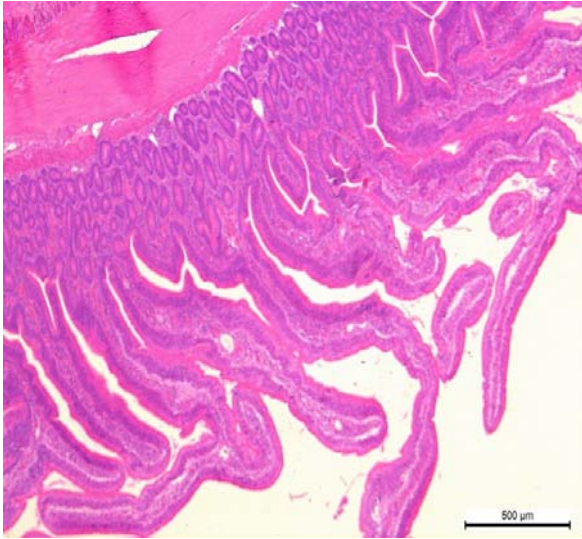


Рис. 5. Слизова оболонка дванадцятипалої кишки курей II групи. Ворсинки хаотично розміщені. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

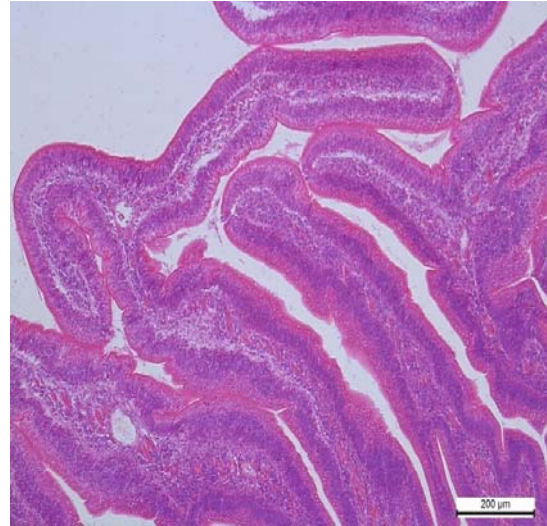


Рис. 6. Ворсинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки курей II групи потовщені і роздвоєні. Східмен. Ок. 10, об. 20

На препаратах, забарвлених альціановим синім за Східменом, у потовщених, складчастих ворсинках та криптах курей II групи між стовпчастими епітеліоцитами проглядались хаотично розміщені, видовженої форми келихоподібні клітини, помірно заповнені глікозаміногліканами. При цьому слід відзначити, що біоплівка ворсинок не приймала альціанофільного забарвлення, що вказує на зниження секреції глікозаміногліканів (рис. 7). У реакції за Мак-Манусом (PAS-реакція) келихоподібні клітини виділялись

серед стовпчастих клітин своїм малиновим забарвленням. Разом з тим слизова біоплівка ворсинок також проявляла слабо виражену PAS-реакцію, що вказувало на зростання у слизистому секреті нейтральних мукополісахаридів та зниження кислих (рис. 8). У гістохімії вуглеводів PAS-реакція відіграє важливу діагностичну роль при ідентифікації глікопротеїнів, полісахаридів, деяких мукополісахаридів, глікопротеїнів і ряду жирних кислот (Sreekumar and Hosono, 1998; Guo et al., 2004).

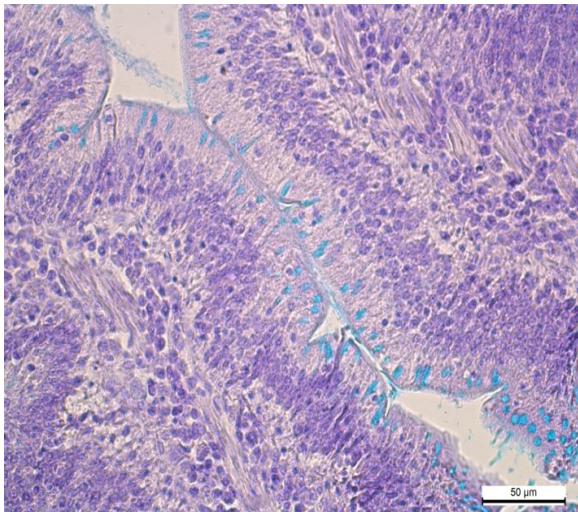


Рис. 7. Альціанофільні келихоподібні клітини у потовщених ворсинках дванадцятипалої кишки курей II групи. Східмен. Ок. 10, об. 40



Рис. 8. PAS-позитивні келихоподібні клітини і біоплівка ворсинки дванадцятипалої кишки курей контрольної групи. Мак-Манус. Ок. 10, об. 40

Висновки

Тривале згодовування птиці кормів з пробіотичною добавкою «Probiol forte» в надмірній дозі 100 г/кг спричинило структурно-функціональні зміни у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки, що викликало зниження продуктивних показників птиці.

Бібліографічні посилання

- Pavlova, N.V., Kirzhaev, F.S., Lapinskajte, R. (2002). Znachenie normal'noj mikroflory pishhevaritel'nogo trakta ptic dlja ih organizma. Bio. 1, 48–50 (in Russian).
- Samarcev, A.A., Astanovich, N.I., Novik, G.I. (2007). Novye probiotiki dlja zhivotnovodstva. Efektivni kormi ta godivlja. 2(18), 14–15 (in Russian).

- Lytvyn, V.P., Polishchuk, V.V. (2008). Porivnialna efektyvnist vitchyznianskykh probiotykyv pry kyshkovykh zakhvoriuvanniakh molodniaku tvaryn. Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii. 1, 123–127 (in Ukrainian).
- Malik, N.I., Panin, A.N. (2001). Veterinarnye probioticheskie preparaty. Veterinarija. 1, 46–51 (in Russian).
- Kotsiumbas, H.I., Kostyniuk, A.K. (2012). Histokhimichna ta ultrastrukturna kharakterystyka dvanadtsiatypaloi kyshky u kurei-broileriv vplyvu probiotykyv, zastosovanykh u riznykh dozakh. Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Hzhyskoho. 14, 3(53), 128–136 (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, H.I., Shehebentovska, O.M., Kostyniuk, A.K. (2012). Histolohichni ta morfolohichni pokaznyky dvanadtsiatypaloi kyshky u kurei-broileriv za vplyvu probiotykyv, zastosovanykh u riznykh dozakh. Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Hzhyskoho. 14, 2(52), 74–80 (in Ukrainian).
- Levytskyi, T.R. (2013). Zahalni pidkhody do otsinky bezpechnosti kormovykh dobavok. Naukovo-tekhnichnyi biuleten Instytutu biolohii tvaryn i DND-KI vetpreparativ ta kormovykh dobavok. 14, 3(4), 301–308 (in Ukrainian).
- Levytskyi, T.R. (2015). Otsinka bezpechnosti kormovoi dobavky liatsyd. Naukovo-tekhnichnyi biuleten Derzhavnogo naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu veterynarnykh preparativ ta kormovykh dobavok i Instytutu biolohii tvaryn. 16(2), 102–105 (in Ukrainian).
- Merkulov, G.A. (1961). Kurs patogistologicheskoy tehniki. L. Izd. med. literatury (in Russian).
- Horalskyi, L.P., Khomych, V.T., Kononskyi, O.I. (2005). Osnovy histolohichnoi tekhniki i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii. Navchalnyi posibnyk. Zhytomyr. Polissia (in Ukrainian).
- Sreekumar, O., Hosono, A. (1998). The antimutagenic of properties of a polysaccharide produced by Bifidobacterium longum and its cultured milk against some heterocyclic amines. Can. J. Microbiol. 44, 1029–1036.
- Guo, F.C., Williams, B.F., Kwakkel, R.P. et. al. (2004). Effect of mushrooms and herb polysaccharides, as alternatives for an antibiotic, on the cecal microbial ecosystem in broiler chickens. J. Poult. Sci. 83, 175–182.

Стаття надійшла до редакції 11.03.2017