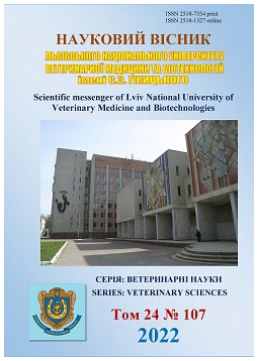

Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького. Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10718
https://nvlvet.com.ua/index.php/journal

UDC 636.09:616.3

Study of the monoglycerides features as a promising alternative to antibiotics in feeding broiler chickens

D. M. Masiuk✉, L. M. Tamchuk, V. S. Nedzvetsky, A. V. Kokariev

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 15.07.2022
Received in revised form 15.08.2022
Accepted 16.08.2022

Dnipro State Agrarian and Economic University, Serhiya Yefremova Str., 25, Dnipro, 49000, Ukraine.
Tel.: +38-050-636-62-37
E-mail: dimasiuk@gmail.com

Masiuk, D. M., Tamchuk, L. M., Nedzvetsky, V. S., & Kokariev, A. V. (2022). Study of the monoglycerides features as a promising alternative to antibiotics in feeding broiler chickens. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(107), 110–118. doi: 10.32718/nvlvet10718

The spreading of antibiotic resistance in the modern world results from the application of uncontrolled and excessively intensive antibiotics for treating human infectious diseases and their use as growth stimulants in animal farming. In some economically developed countries, restrictions on the use of antibiotics are already applied in order to prevent the generation of resistant strains of microorganisms. An essential component of such means is antibiotic-free strategies in animal farming. Recently, strategies based on the alternative to both antimicrobials and growth promoters have been proposed, including probiotics, prebiotics, synbiotics, enzymes, and organic acids. Short-chain fatty acids and monoglycerides based on them are considered a promising alternatives to antimicrobial agents for poultry farming. However, the effects of these compounds on innate immunity and cytokine production in the intestinal system remain undiscovered. The experiment was carried out using two groups of Cobb 500 cross broilers in the conditions of an industrial poultry farm. The broiler chickens of the research group were exposed to a monoglyceride mixture with C3, C4, C8–C10 fatty acids from 1 to 7 days of life and 16 to 22 days of life at a dose of 0.5 l of the mixture per ton of water. On the 31-st day of life, productive parameters were evaluated, and five birds were selected from each group. The fragments of the duodenum, caecum, and rectum with contents were taken from the bird. In the presented study, the content of interferon-α in the tissue of the small intestine of broiler chickens under the conditions of drinking monoglyceride was studied. To evaluate the beneficial effect of monoglyceride, the state of the microbiome and productive indicators were determined. The study showed that the monoglyceride induces a statistically significant increase in the content of enterococcus in the duodenum, suppresses the growth of staphylococcus, and increases the production of interferon-α. Moreover, average daily weight gain relative to controls was almost 2% greater in monoglyceride-treated chicks. Thus, preservation of the state of microbiota and moderate stimulation of interferon-α production can be essential components of the multidirectional protective effect of monoglycerides and fatty acids.

Key words: *short-chain fatty acids, monoglycerides, small intestine, microbiome, interferon-α.*

Дослідження властивостей моногліцеридів як перспективної альтернативи антибіотикам в годуванні курчат-бройлерів

Д. М. Масюк✉, Л. М. Тамчук, В. С. Недзвецький, А. В. Кокарєв

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Тотальне поширення антибіотико-резистентності у сучасному світі є результатом безконтрольного і надмірно інтенсивного використання антибіотиків як для лікування інфекційних хвороб людини, так і застосування як стимуляторів росту у тваринництві. В окремих економічно розвинених країнах вже застосовуються обмеження використання антибіотиків з метою запобігання генерації резистентних штамів мікроорганізмів. Важливим компонентом таких засобів вважається використання антибіотик-фрі стратегій у тваринництві. Останнім часом пропонуються стратегії, побудовані на альтернативних антимікробних засобах

та стимуляторах росту, включаючи пробіотики, пребіотики, синбіотики, ферменти та органічні кислоти. Коротколанцюгові жирні кислоти та моногліцериди на їх основі розглядаються як перспективна альтернатива анти-мікробних засобів для птахівництва. Однак залишаються нерозкритими ефекти цих сполук на вроджений імунітет і продукцію цитокінів в інтестинальній системі. Дослід проведений на двох групах бройлерів кросу Cobb 500 в умовах промислової птахофабрики. Курчатам-бройлерам дослідної групи додавали препарат моногліцериду з жирними кислотами С3, С4, С8–С10 з 1 по 7 добу життя та з 16 по 22 добу життя у дозі 0,5 л препарату на тонну води. На 31 добу життя оцінювали продуктивні параметри та відбирали по 5 голів птиці з кожної групи. У птиці відбирали фрагменти дванадцятипалої, сліпої та прямої кишок із вмістом. В даному дослідженні вивчали вміст інтерферону-α у тканині тонкого кишечника курчат-бройлерів за умов випоювання моногліцериду. Для оцінки корисного впливу моногліцериду визначали стан мікробіому та продуктивні показники. Результати дослідження показали, що препарат моногліцериду сприяє статистично достовірному зростанню вмісту ентерококів у дванадцятипалій кишці, пригнічує ріст стафілококів та підвищує продукцію інтерферону-α. До того ж середньодобове зростання ваги щодо контролю було майже на 2 % більшим у курчат, які отримували моногліцерид. Таким чином, збереження стану мікробіоти і помірна стимуляція продукції інтерферону-α можуть бути важливими складовими багатоспрямованої захисної дії моногліцеридів та жирних кислот.

Ключові слова: *коротколанцюгові жирні кислоти, моногліцериди, тонкий кишечник, мікробіом, інтерферону-α.*

Вступ

Для забезпечення прибуткового птахівництва зазвичай антибіотики включаються в раціон як стимулятори росту. Однак через тотальне зростання антибіотикорезистентності у більшості розвинених країн було заборонено використання антибіотиків у птахівництві. Європейський Союз (ЄС) був першою організацією, яка заявила про намір припинити використання антибіотиків у 2006 році (Salim et al., 2018). З метою збереження оптимального рівня продуктивності та здоров'я продуктивних тварин запропоновані альтернативні антимікробні засоби та стимулятори росту, такі як пробіотики, пребіотики, ферменти та органічні кислоти. Незважаючи на суттєвий прогрес у розробці антимікробних засобів для птахівництва, актуальною проблемою залишається пошук ефективної і одночасно безпечної для здоров'я птахів альтернативної стратегії використання антибіотиків. Генетично сучасні бройлери є швидкорослими птахами, які досягають товарного віку у віці 5 тижнів, і тому кормові добавки вважаються необхідними для підтримки продуктивності сучасного птахівництва (Shang et al., 2020).

Різні альтернативи використання антибіотиків були запропоновані останнім часом, включаючи рослинні продукти та екстракти з них (Shang et al., 2020; Scicutella et al., 2021). Найбільш чисельною групою кормових добавок були досліджені й запропоновані пребіотики, пробіотики, синбіотики та широке коло сполук, екстрагованих з них (Sokale et al., 2019). Показано, що такі домішки є перспективними альтернативами, використання яких покращує ефективність корму та ріст бройлерів. Зокрема, корисний ефект на мікробіоту бройлерів був продемонстрований шляхом додавання у корм коротколанцюгових жирних кислот, пшеничних висівок та екстракту з дріжджів (Thanissery et al., 2010; Shang et al., 2020; Kumar et al., 2022).

Багатообіцяючою альтернативою розглядається використання органічних кислот та їх сполук. Серед них такі органічні кислоти, як пропіонова, мурашина, лимонна, оцтова кислота виявляють властивості, які доводять перспективність застосування їх як антимікробних засобів (Khan et al., 2022). До того ж підкислювачі відіграють ключову роль у збереженні кормів без антибіотиків. Протягом століть органічні кислоти використовуються як кормовий консервант завдяки сильній антибактеріальній і протигрибковій дії (Singh, 2018). Як правило, органічні кислоти є слабкими кислотами і лише частково дисоціюють. Вони вважаються безпечними і використовуються людством для збереження їжі протягом століть. Недавні дослідження показали, що окремі органічні кислоти виявляють антибактеріальні, імунномодулюючі властивості та здатні стимулювати ріст бройлерів (Khan et al., 2022).

Однією з найбільш перспективних стратегій вважається комбіноване використання коротколанцюгових жирних кислот та моногліцеридів, що ситезовані на їх основі. Корисний ефект моногліцеридів на поліпшення якості м'яса був недавно показаний на прикладі дієтарної дози монолаурата гліцерину (Fortuoso et al., 2019). Важливою особливістю органічних кислот та моногліцеридів є те, що вони справляють мультифакторіальні ефекти на стан мікробіому, імунної відповіді та підтримують головні функції кишечника. Безсумнівно, сталі функції кишечника є критичною вимогою птахівництва для досягнення цільової ефективності годівлі та забезпечення продуктивності галузі.

Традиційними маркерами стану кишечника є морфометричні показники та склад мікробіому. Однак останнім часом для оцінки бар'єрної функції кишечника все ширше використовуються молекулярні маркери міжклітинної адгезії ентероцитів, продукція цитокінів та маркерів програмованої загибелі клітин (Günther et al., 2013; Kong et al., 2021; Liu et al., 2022). Інтерферон-α належить до групи цитокінів, продукція яких активується в ході імунної відповіді на широке коло інфекційних агентів, насамперед вірусів (González-Navajas et al., 2012). Результати останніх досліджень довели, що жирні кислоти в різних дозах і комбінаціях стимулюють поліпшення морфологічних показників епітелію кишечника, зокрема висоти, ширини, глибини та площі крипт клубової, дванадцятипалої та порожньої кишок у бройлерів. Крім того, нещодавно отримані результати досліджень показали, що коротколанцюгові жирні кислоти і їхні різні поєднання покращують роботу кишечника бройлерів, уражених некротичним ентеритом (Kumar et al., 2022). Однак інші недавні дослідження показали, що використання окремих органічних кислот для вирощування промислової птиці має низку недоліків, пов'язаних з дисбалансом функцій інтестинальної системи. Зокрема, бар'єрна функція кишечника є найбільш вразливою до шкідливої дії широкого кола факторів, включаючи патогенні мікроорганізми та

різні токсикогенні фактори. Незважаючи на значний прогрес у вивченні корисних для інтестинальної системи властивостей жирних кислот, залишаються нерозкритими молекулярні та клітинні механізми їх дії як на бар'єрну функцію кишечника, так і складові цієї критичної для забезпечення здоров'я функції. Таким чином, розкриття молекулярних механізмів дії коротколанцюгових жирних кислот та моногліцеридів на стан інтестинальної системи промислових птахів дозволить розробити ефективну альтернативну використанню антибіотиків стратегію відповідно до сучасних вимог птахівництва у ЄС.

Мета дослідження

Метою дослідження було визначити вплив коротколанцюгових жирних кислот та моногліцеридів на імунну (бар'єрну) функцію кишечника, стану мікробіому та продуктивні показники курчат-бройлерів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження виконані на базі НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК (Biosafety-center) ДДАЕУ. Робота проведена на курчатах-бройлерах кросу Cobb 500 в умовах промислової птахофабрики. Для проведення досліду було сформовано 2 групи курчат добового віку – дослідна, яка налічувала 55000 курчат, та контрольна – 36000 курчат. Щільність посадки у контрольній групі склала 20,6 курчат/м^2, а у дослідній – 21,4 курчат/м^2.

Курчат піддослідних груп вирощували за стандартним протоколом підприємства. Одночасно з цим птиці дослідної групи з водою випоювали препарат моногліцериду з жирними кислотами (С3, С4, С8-С10) з 1 по 7 добу життя та з 16 по 22 добу життя у дозі 0,5 л препарату на тонну води. На 31 добу життя проведено контрольне зважування птиці обох груп. Для зважування було вибрано по 2744 голів птиці з кожної дослідної групи. Для лабораторних досліджень відбирали по 5 голів птиці з кожної групи на 31 добу життя. Після евтаназії курчат розтинали черевну порожнину, відбирали дванадцятипалу, сліпу, пряму кишки та проводили первинний посів для проведення мікробіологічних досліджень. Для проведення імуноблотингу відбирали по декілька фрагментів по 3–5 см окремих кишок.

Всі процедури з птицею проводили з урахуванням вимог Закону України № 3447-IV від 21.02.06 р. "Про захист тварин від жорстокого поводження", узгоджені з основними принципами "Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей" (Страсбург, 1986), та затверджені комісією з біоетики експериментів на тваринах Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Дослідження мікробіому кишечника птахів були проведені з класичних мікробіологічних методів (Lyhs, 2009). Визначали титр бактерій групи кишкової палички, кількість колонії утворюючих ентерококів та стафілококів у 1,0 г вмісту кожного з відділів кишечнику. Для культивування та кількісного аналізу мікроорганізмів у вмісті кишечнику використовували бульйон МакКонкі з бромкрезоловим пурпурним, агар Ендо, агар Бейд-Паркера та жовчно-ескуліновий агар. Кількість мікроорганізмів визначали шляхом культивування бактерій у серійних розведеннях вмісту кишечнику.

Зразки білкових екстрактів отримували шляхом гомогенізації тканини кишечника в 25 мМ трис буфері (pH 7,4), що містив 0,2 % додецилсульфату натрія та коктейль інгібіторів протеаз. Гомогенати витримували 30 хв при +4 °С для екстракції структурних білків та центрифугували (Kirici et al., 2019). Концентрацію загального білка в кожному зразку визначали за методом Бредфорда (Bradford, 1976). Зразки змішували у співвідношенні 1:1 з буфером Леммлі, що містив 0,1 М дитіотреїтолу, і кип'ятили протягом 5 хв. Зразки білка заморожували і зберігали при -20 °С перед аналізом не більше двох тижнів.

Визначення вмісту інтерферону-α проводили методом імуноблотингу, як це описано раніше (Nedzvetsky et al., 2019). В роботі використовували анти-IF-α (Abcam, ab-194586) та анти-β-актин (Santa-Cruz, sc-69879) антитіла, розведені 1/2000.

Денситометричний аналіз отриманих результатів проводили з використанням програмного забезпечення Total Lab TL120. Молекулярні маси забарвлених поліпептидних зон були ідентифіковані шляхом екстраполяції відносної рухливості кожного поліпептиду на ділянці попередньо забарвлених білків з відомою молекулярною масою (PageRuler Prestained Protein Ladder, Fermentas, Німеччина).

Результати вмісту загального білка та імуноблотингу відображали у відсотках щодо контрольної групи. Розраховані результати подані як середнє ± стандартне відхилення (SD) на гістограмах. Отримані кількісні результати аналізували за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу (ANOVA) з подальшим тестом Бонферроні post-hoc. Зміни показників вважали достовірними за $P < 0,05$ (у тому числі $P < 0,01$ і $P < 0,001$).

Результати та їх обговорення

Для оцінки впливу препарату моногліцеридів на продуктивні показники був проведений аналіз середньодобового приросту курчат контрольної та дослідної груп. Результати аналізу показали, що випоювання курчатам-бройлерам коротколанцюгових жирних кислот та моногліцеридів сприяє підвищенню продуктивності птиці (рис. 1).

Отримані дані свідчать про те, що значення середньодобового приросту було вищим у дослідної групи курчат більш ніж на 2 % порівняно із птахами контрольної групи.

Дослідження стану мікробіому було проведено для вивчення антимікробної дії препарату моно гліцеридів, спрямованої на пригнічення росту патогенної мікрофлори. Результати показали присутність розповсюджених таксонів мікробіому в різних відділах кишечника в курчат-бройлерів на тлі випоювання моногліцеридів з жирними кислотами (С3, С4, С8-С10).

Встановлено, що титр бактерій групи кишкової палички у вмісті дванадцятипалої кишки був найменшим, порівняно зі значеннями у сліпій та прямій кишках, та коливався у межах 10^4–10^5 у 1 г хімусу (рис. 2).

У вмісті сліпої та прямої кишок кількість бактерій групи кишкової палички була у 1000 разів більшою порівняно зі значеннями дванадцятипалої кишки. При цьому кількість кишкових паличок у сліпій та прямій кишках коливалась у межах 10^7–10^8 бактерій в 1 г хімусу. Порівняльний аналіз титру бактерій групи кишкової палички показав, що у вмісті дванадцятипалої, сліпої та прямої кишок показник титр був більшим відповідно у 0,71, 1,58 та 1,74 раза у курчат дослідної групи порівняно з контрольною групою. Проте отримані результати достовірно не відрізняються між групами, що обумовлено високою варіабельністю цього показника між тваринами в середині групи.

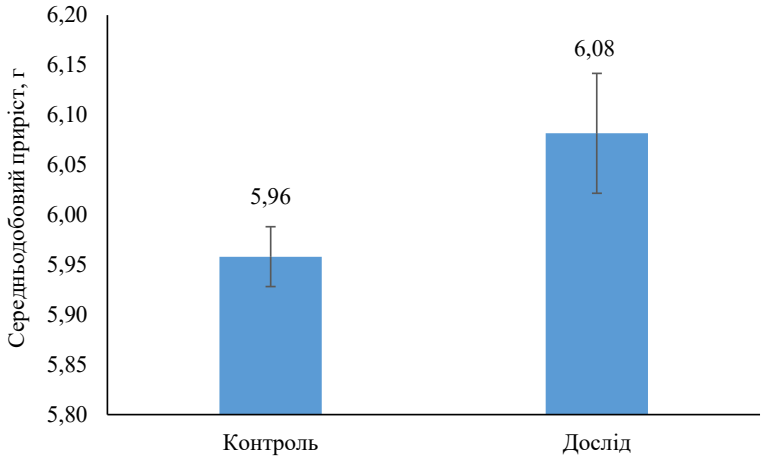

Рис. 1. Середньодобовий приріст курчат-бройлерів піддослідних груп (M ± m, n = 2744)

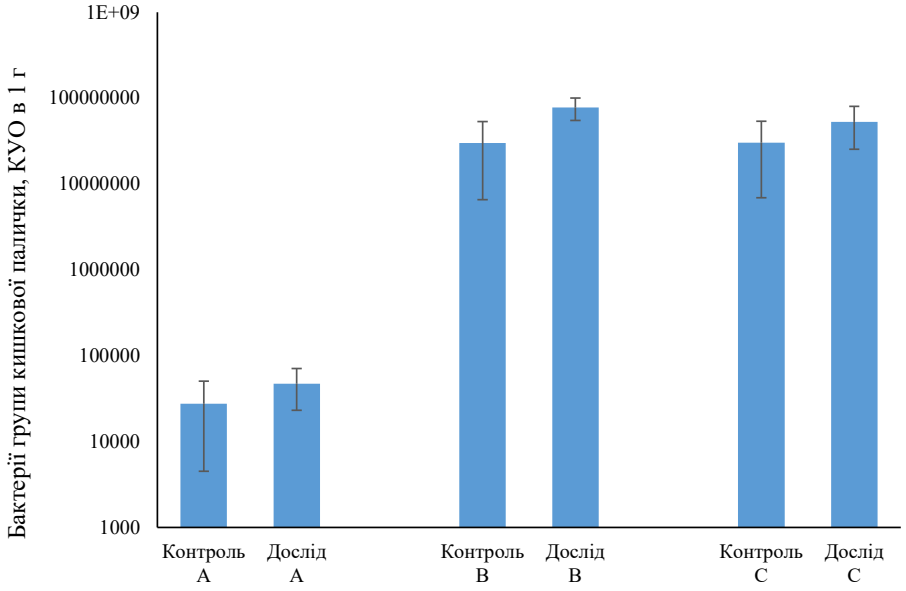

Рис. 2. Титр бактерій групи кишкової палички у різних відділах кишечнику курчат-бройлерів піддослідних груп (M ± m, n = 5)

Примітка: A – дванадцятипала кишка; B – сліпа кишка; C – пряма кишка

Випоювання птиці коротколанцюгових жирних кислот та моногліцеридів впливає на кількість ентерококів у кишечнику (рис. 3). Це позначилось тенденцією до зменшенням кількості ентерококів у тонкій кишці птиці дослідної групи та суттєвим збільшенням їх у вмісті товстої кишки порівняно зі значеннями курчат контрольної групи.

Аналіз вмісту дванадцятипалої кишки показав, що у птиці дослідної групи кількість ентерококів була у 2,4 раза меншою щодо контрольної групи. Водночас у вмісті сліпої та прямої кишки, навпаки, виявлена зворотна динаміка до збільшення кількості цих бактерій у 48 та майже 4 рази відповідно.

Аналізуючи кількість колоній утворюючих стафілококів показав, що ці мікроорганізми ідентифіковано у вмісті як тонкої, так і товстої кишки птиці контрольної групи в кількості 10^4–10^6 бактерій у 1 г (рис. 4).

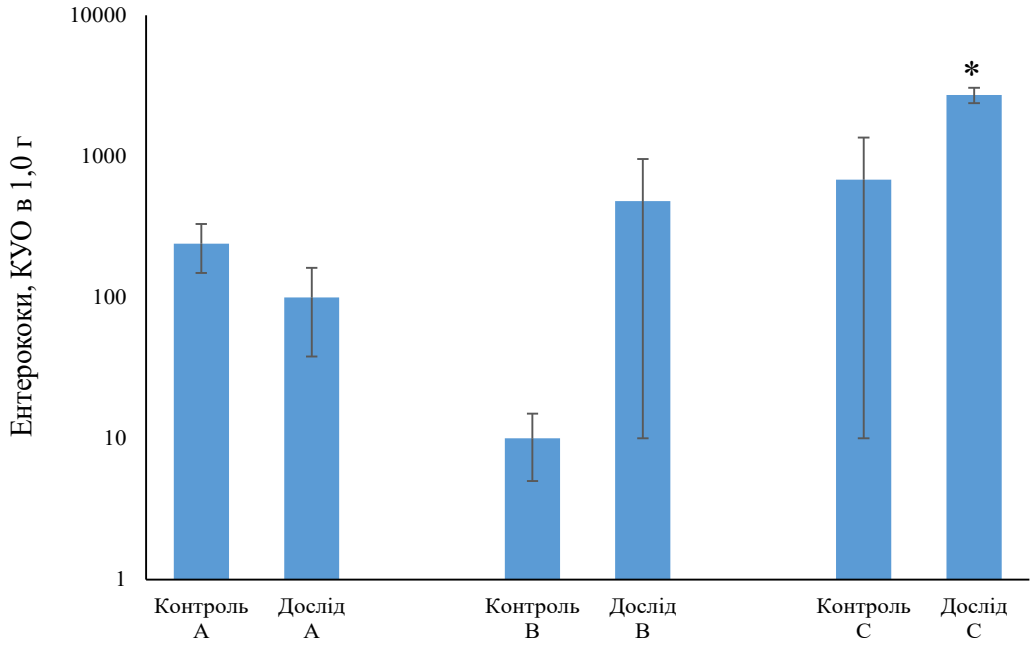

Рис. 3. Кількість колонії утворюючих ентерококів у 1,0 г хімусу з різних відділів кишечнику курчат-бройлерів піддослідних груп (M ± m, n = 5). * – P < 0,05 достовірність змін порівняно з контролем

Примітка: А – дванадцятипала кишка; В – сліпа кишка; С – пряма кишка

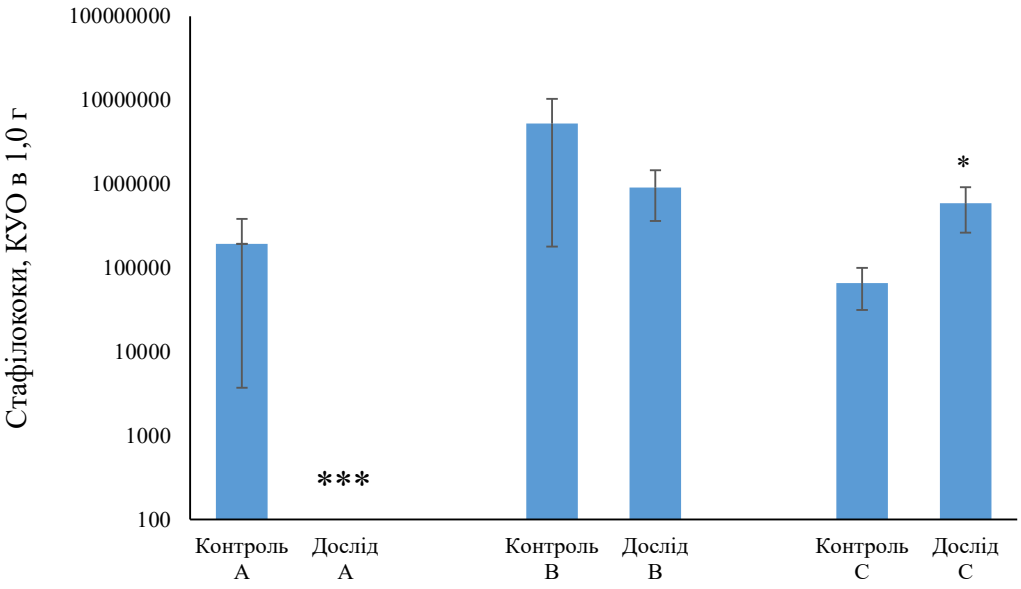

Рис. 4. Кількість колонії утворюючих стафілококів у 1,0 г хімусу кишечнику курчат-бройлерів піддослідних груп (M ± m, n = 5). * – P < 0,05, *** – P < 0,001 достовірність змін порівняно з контролем.

Примітка: А – дванадцятипала кишка; В – сліпа кишка; С – пряма кишка

Застосування коротколанцюгових жирних кислот та моногліцеридів сприяло звільненню дванадцятипалої кишки курчат дослідної групи від стафілококів. При цьому відбувається зниження їхньої кількості у вмісті сліпої кишки в 5,8 раза при збільшенні в 9 разів у вмісті прямої кишки дослідної групи курчат порівняно з контрольною групою.

Отже, випоювання курчатам препарату моногліцеридів сприяло посиленню колонізації тонкої кишки птиці бактеріями групи кишкової палички та ентерококами із одночасним зменшенням кількості колоній утворюючих стафілококів.

Результати визначення відносного вмісту α-інтерферону в тканині кишечнику птахів методом імуноблотинга виявили достовірні відмінності між контрольною та групою птахів, які додатково отримували суміш коротколанцюгових жирних кислот з моногліцеридом (рис. 5).

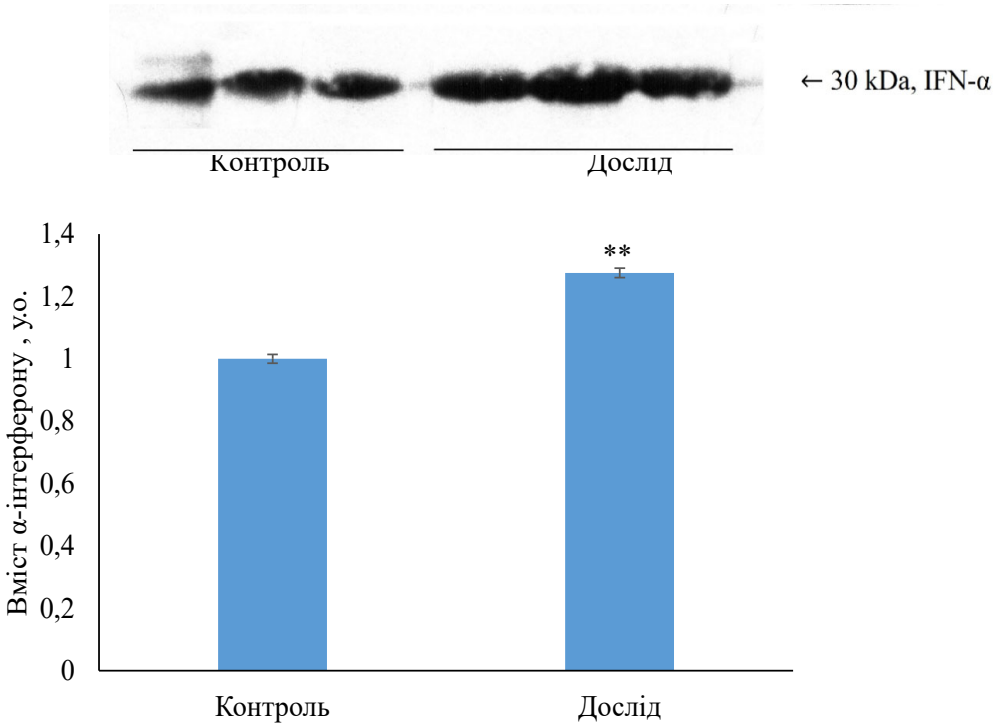

Рис. 5. Результати імуноблотингу та відносний вміст α-інтерферону в дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів піддослідних груп (M ± m, n = 5). ** – P < 0,01 достовірність змін порівняно з контролем

Загалом отримані результати свідчать про корисний модуляторний ефект суміші коротколанцюгових жирних кислот та моногліцеридів на стан мікробіому кишечнику, вмісту α-інтерферону в тканині кишечнику та продуктивні показники курчат бройлерів.

Вато зазначити, що здоров'я кишечника є головною умовою для досягнення цільової ефективності годівлі та темпу зростання маси курчат-бройлерів. Окрім того, що антибіотики використовуються як стимулятори росту, протимікробні засоби зменшують проліферацію інфекційних збудників та вміст їхніх токсинів у кишечнику. Однак використання антибіотиків у птахівництві заборонене у більшості розвинених країн (Salim et al., 2018). Насамперед така заборона обумовлена глобальним зростанням антибіотикорезистентності та викликами здоров'ю людини. Саме тому пошук сучасних стратегій підтримки здоров'я птахів, які можуть бути ефективною альтернативою використання антибіотиків, є надзвичайно актуальним (Scicutella et al., 2021). Актуальність такого пошуку підкреслюється також тим фактом, що за останні десять років кількість публікації стосовно цього питання зросла у сотні разів.

Виявлена у нашому досліджені корисна дія моногліцериду на продуктивні показники курчат може бути опосередкована мультифакторіальними ефектами на стан мікробіому, імунну резистентність та бар'єрну функцію кишечнику. На особливу увагу заслуговує зростання середньодобового приросту курчат, які споживали моно гліцериди, порівняно з контрольною групою птиці. Враховуючи той факт, що вибіркова антимікробна дія моногліцеридів спрямована насамперед на пригнічення патогенної мікрофлори і підтримку функцій кишечнику, представлені в нашій роботі результати повністю співвідносяться з літературними даними (Fortuoso et al., 2019).

Антимікробна дія коротколанцюгових жирних кислот привертає увагу з огляду на перспективність їх використання у птахівництві для пригнічення росту патогенних бактерій. Окремі результати про позитивний вплив органічних кислот на зменшення росту *Escherichia coli, Campylobacter* і *Salmonella* у питній воді та відділах шлунково-кишкового тракту промислової птиці були представлені в останні роки (Kovanda et al., 2019).

Останнім часом декілька альтернативних стратегій з використанням природних продуктів були досліджені в різних країнах. Показано, що продукти, вироблені з фруктових відходів, які багаті на флавоноїди та інші біоактивні сполуки, модулюють імунну відповідь і підвищують резистентність до інфекційних агентів (Hasted et al., 2021). Продемонстрована ефективність використання ефірних олій, зокрема тимолу та коричного альдегіду, для профілактики та пригнічення росту Campylobacter у шлунково-кишковому тракті бройлерів (Micciche et al., 2019). Дієтичні добавки олії з орегано можуть бути перспективною альтернативою стимуляторам росту антибіотиків для поліпшення вирощування птиці через загальну антиоксидантну дію та покращення здоров'я кишечнику бройлерів (Zhang et al., 2021). Розглядається використання нанокапсулювання ефірної олії часнику з хітозаном як альтернатива антибіотикам у годівлі бройлерів (Amiri et al., 2021). Корм виготовлений з відходів харчової промисловості переробки угорського червоного солодкого перцю та вишні показав здатність модулювати кишкову мікрофлору під час різних стадій вирощування бройлерів. Передбачається, що імуностимулятори рослинного походження, перероблені

з рослинних харчових відходів, можуть доповнити виробництво м'яса бройлерів без антибіотиків (Tolnai et al., 2021).

На жаль, усі вищезгадані сполуки є більш витратними порівняно з антибіотиками. Незважаючи на велике число експериментальних результатів, не розроблено жодної повноцінної стратегії заміни антибіотиків. Вагомим аргументом є той факт, що відсутність антимікробних препаратів обумовлює високий ризик інфекційних захворювань, що завдають суттєвих економічних збитків. Зокрема, таких як некротичний ентерит, спричинений бактеріями *Clostridium perfringens*, та колібактеріоз, спричинений пташиною патогенною *E. coli* у курчат-бройлерів. Кишечник є головною мішенню ушкодження інфекційними та токсичними агентами за умов використання антибіотик-фрі стратегій. З огляду на це цілком виправдано застосування жирних кислот та моногліцеридів як кормових добавок. Коротколанцюгові жирні кислоти стимулюють обмін в клітинах, захищають епітеліальні клітини від руйнування, поліпшують проліферацію нормальних клітин крипт та їхні морфометричні показники, що відповідно забезпечує ефективність бар'єрної функції інтестинальної системи. Недавно показано, що моногліцериди можуть захищати кишечник від мукозальних ушкоджень шляхом регуляції складу мікробіоти та активації механізмів антиоксидантного захисту (Kong et al., 2022).

Варто зазначити, що використання сумішей органічних кислот та моногліцеридів розглядають як порівняно недорогу та водночас ефективну заміну антибіотикам. Жирні кислоти та моногліцериди включаються в шляхи енергетичного метаболізму як субстрати й тим самим сприяють виживаності клітин та підтримці їхньої функціональної спроможності. Показано, що додавання цих сполук у корм птахів стимулюють обмін здорових тканин і поліпшують проліферацію нормальних клітин крипт (Shimaa et al., 2021). Корисна дія на збереження курчат може бути опосередкована впливом моногліцеридів не тільки на мікробіом, а й на імунну відповідь у кишечнику. Отримані в нашому дослідженні результати свідчать про імуномодулюючий ефект моногліцеридів, обумовлений помірним зростанням продукції α-інтерферону. Інтерферон- α є не лише противірусним агентом, а й потужним регулятором реакцій вродженого імунітету (González-Navajas et al., 2012). Імуномодулюючий ефект, що забезпечує поліпшення імунного статусу бройлерів, є вагомою складовою мультифакторіальної корисної дії жирних кислот та моногліцеридів. Останні дослідження були спрямовані як на оцінку індивідуальних ефектів окремих жирних кислот та моногліцеридів, так і їх сумішей. Поліпшена імунна відповідь була виявлена у курчат-бройлерів, яких годували різними сумішами моногліцеридів та органічних кислот (Sun et al., 2020; Lan et al., 2021).

Виявлена в нашому дослідженні корисна дія кормової домішки жирних кислот та моногліцеридів може бути комплексним ефектом метаболітів мікробіому та безпосередньої дії моногліцеридів на епітеліальні клітини кишечнику. Разом ці фактори стимулюють метаболічну активність клітин кишкового епітелію, проліферацію та відновлювання бар'єрної функції кишечнику після ушкоджень (Kumar et al., 2022). Варто зазначити, що жирні кислоти та моногліцериди включаються в шляхи енергетичного метаболізму як субстрати й тим самим сприяють виживаності клітин та підтримці їхньої функціональної спроможності. Показано, що додавання цих сполук у корм птахів стимулюють обмін здорових тканин і поліпшують проліферацію нормальних клітин крипт (Shimaa et al., 2021).

Продукція цитокінів, включаючи інтерферони, є однією із складових вродженого імунітету і підтримує бар'єрну функцію кишечнику. В літературі наведено декілька результатів стосовно модуляторних ефектів жирних кислот та моногліцеридів на продукцію цитокінів у кишечнику і відповідно – на ефективність бар'єрної функції. Показано, що жирні кислоти сприяють посиленню інтестинального ангіогенеза та експресії генів щільних міжклітинних контактів (Gomez-Osorio et al., 2021). Гліцеролмонолаурат підвищує продукцію інтерлейкіну-1β та інтерферону-γ, що супроводжується модуляцією інтестинальної мікробіоти та бар'єрної функції (Kong et al., 2021). Отримані в нашому дослідженні результати повністю співвідносяться з вищезазначеними даними стосовно здатності моногліцеридів стимулювати продукцію цитокінів в інтестинальній системі. Виявлені зміни мікробіому, так само, відображають біологічну мультифакторіальну активність моногліцеридів, яка спрямована на посилення ефективності бар'єрної функції кишечника.

Генетика, швидкий ріст і ефективне використання корму призвели до більш високої сприйнятливості скомпрометованої імунної відповіді порівняно з іншими видами птахів. Враховуючи цей факт, дієта бройлерів має містити компоненти для стимуляції вродженого імунітету – як мінімум (Khan et al., 2022). Органічні кислоти здатні модулювати кількість патогенних бактерій та можуть бути корисними для поліпшення імунного статусу бройлерів через стимуляцію продукції цитокінів (Scicutella et al., 2021; Kong et al., 2022). Зокрема, посилювати відповідь проти багаторезистентних штамів (Anacarso et al., 2018) і можуть бути перспективною альтернативою антибіотиків у птахівництві (Mannelli et al., 2019) та стимулювати рост за відсутності токсичних ефектів (Fortuoso et al., 2019).

Загалом наведені результати свідчать про багатоспрямовані ефекти суміші жирних кислот з моногліцеридами і їхній корисний ефект стосовно підтримки здоров'я кишечнику курчат-бройлерів. Збереження стану мікробіоти і помірна стимуляція продукції α-інтерферону можуть бути важливими складовими багатоспрямованої захисної дії моногліцеридів та жирних кислот.

З огляду на те, що інтестинальна мікробіота сприяє розвитку імунних функцій травної системи і є ключовим фактором у підтримці здоров'я продуктивної птиці, комбінована дія коротколанцюгових жирних кислот з моногліцеридами може мати багатоспрямовані ефекти, включаючи антибактеріальну ефективність, та посилювати бар'єрну функцію кишечнику.

Інтестинальна мікробіота продукує розчинні фактори, які спрямовані на активацію імунної відповіді проти патогенів. Таким чином, поліпшення складу мікробіоти може бути важливою складовою корисного ефекту моногліцеридів за рахунок активації імунної резистентності у клітинах кишечнику.

Висновки

Використання стратегії комбінованого застосування жирних кислот і моногліцеридів має цілеспрямовані ефекти на підтримку мікробіоти та імунні функції кишечнику, що може бути підставою для розробки перспективної альтернативи заміни традиційних антимікробних засобів у птахівництві. Виявлена модуляція продукції α-інтерферону дієтарними домішками жирних кислот і моногліцеридів може підтримувати вроджений імунітет, бар'єрну функцію кишечника і здоров'я бройлерів.

Перспективи подальших досліджень. Майбутні дослідження повинні бути спрямовані на оптимізацію дози, тривалості та виявлення молекулярних механізмів розширення використання цих сполук у птахівництві. Використання коротколанцюгових жирних кислот з моногліцеридами може бути базовим компонентом для створення стратегій заміни антибіотиків як у птахівництві, так і тваринництві.

Відомості про конфлікт інтересів.

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Amiri, N., Afsharmanesh, M., Salarmoini, M., Meimandipour, A., Hosseini, S. A., & Ebrahimnejad, H. (2021). Nanoencapsulation (in vitro and in vivo) as an efficient technology to boost the potential of garlic essential oil as alternatives for antibiotics in broiler nutrition. Animal, 15(1), 100022. DOI: 10.1016/j.animal.2020.100022.

Anacarso, I., Quartieri, A., Leo, R. D., & Pulvirenti, A. (2018). Evaluation of the antimicrobial activity of a blend of monoglycerides against Escherichia coli and Enterococci with multiple drug resistance. Arch Microbiol., 200(1), 85–89. DOI: 10.1007/s00203-017-1419-5.

Bradford, M. M. (1979). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem., 72, 248–254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999.

Fortuoso, B. F., Dos Reis, J. H., Gebert, R. R., Barreta, M., Griss, L. G., Casagrande, R. A., de Cristo, T. G., Santiani, F., Campigotto, G., Rampazzo, L., Stefani, L. M., Boiago, M. M., Lopes, L. Q., Santos, R. C. V., Baldissera, M. D., Zanette, R. A., Tomasi, T., & Da Silva, A. S. (2019). Glycerol monolaurate in the diet of broiler chickens replacing conventional antimicrobials: Impact on health, performance and meat quality. Microb Pathog., 29, 161–167. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.02.005.

Fortuoso, B. F., Reis, J. H. D., Gebert, R. R., Barreta, M., Griss, L. G., Casagrande, R. A., Cristo, T. G., Santiani, F., Campigotto, G., Rampazzo, L., Stefani, L. M., Boiago, M. M., Lopes, L. Q., Santos, R. C. V., Baldissera, M. D., Zanette, R. A., & Tomasi, T. (2019). Glycerol monolaurate in the diet of broiler chickens replacing conventional antimicrobials: Impact on health, performance and meat quality. Microb Pathog., 129, 161–167. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.02.005.

Gomez-Osorio, l. M., Yepes-Medina, V., Ballou, A., Parini, M., & Angel, R. (2021). Short and Medium Chain Fatty Acids and Their Derivatives as a Natural Strategy in the Control of Necrotic Enteritis and Microbial Homeostasis in Broiler Chickens. Front Vet Sci., 14(8), 773372. DOI: 10.3389/fvets.2021.773372.

González-Navajas, J. M., Lee, J., David, M., & Raz, E. (2012). Immunomodulatory functions of type I interferons. Nat Rev Immunol., 12(2), 125–35. DOI: 10.1038/nri3133.

Günther, C., Neumann, H., Neurath, M. F., & Becker, C. (2013). Apoptosis, necrosis and necroptosis: cell death regulation in the intestinal epithelium. Gut, 62(7), 1062–1071. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301364.

Hasted, T. L., Sharif, S., Boerlin, P., & Diarra, M. S. (2021). Immunostimulatory Potential of Fruits and Their Extracts in Poultry. Front Immunol., 12, 641696. DOI: 10.3389/fimmu.2021.641696.

Khan, R. U., Naz, S., Raziq, F., Udratullah, Q., Khan, N. A., Laudadio, V., Tufarelli, V., & Ragni, M. (2022). Prospects of organic acids as safe alternative to antibiotics in broiler chickens diet. Poult Sci., 29(22), 32594–32604. DOI: 10.1007/s11356-022-19241-8.

Kirici, M., Nedzvetsky, V. S., & Gasso, V. Y. (2019). Sublethal doses of copper sulphate initiate deregulation of glial cytoskeleton, NF-kB and PARP expression in Capoeta umbla brain tissue. Regulatory Mechanisms of Biosystems, 10(1), 103–110. DOI: 10.15421/021916.

Kong, F. L., Wang, Z., Xiao, C., Zhu, Q., & Song, Z. (2021). Glycerol Monolaurate Ameliorated Intestinal Barrier and Immunity in Broilers by Regulating Intestinal Inflammation, Antioxidant Balance, and Intestinal Microbiota. Immunol., 12, 713485. DOI: 10.3389/fimmu.2021.713485.

Kong, L., Wang, Z., Xiao, C., Zhu, Q., & Song, Z. (2022). Glycerol monolaurate attenuated immunological stress and intestinal mucosal injury by regulating the gut microbiota and activating AMPK/Nrf2 signaling pathway in lipopolysaccharide-challenged broilers. Anim Nutr., 10, 347–359. DOI: 10.1016/j.aninu.2022.06.005.

Kong, L.,Wang, Z., Xiao, C., Zhu, Q., & Song, Z. (2021). Glycerol Monolaurate Ameliorated Intestinal Barrier and Immunity in Broilers by Regulating Intestinal Inflammation, Antioxidant Balance, and Intestinal Microbiota. Front Immunol., 12, 713485. DOI: 10.3389/fimmu.2021.713485.

Kovanda, L., Zhang, W., Wei, X., Luo, J., Wu, X., Atwill, E. R., Vaessen, S., Li, X., & Liu, Y. (2019). In Vitro Antimicrobial Activities of Organic Acids and Their Derivatives on Several Species of Gram-Negative and

Gram-Positive Bacteria. Molecules., 24(20), 3770. DOI: 10.3390/molecules24203770.

Kumar, A., Toghyani, M., Kheravii, S., Pineda, L., Han, Y., & Swick, R.A. (2022). Organic acid blends improve intestinal integrity, modulate short-chain fatty acids profiles and alter microbiota of broilers under necrotic enteritis challenge. Anim Nutr., 8(1), 82–90. DOI: 10.1016/j.aninu.2021.04.003.

Lan, J., Chen, G., Cao, G., Tang, J., Li, Q., Zhang, B., & Yang, C. (2021). Effects of α-glyceryl monolaurate on growth, immune function, volatile fatty acids, and gut microbiota in broiler chickens. Poult Sci., 100(3), 100875. DOI: 10.1016/j.psj.2020.11.052.

Liu, T., Guo, L., Zhangying, Y., Ruan, S., Liu, W., Zhang, X., & Feng, F. (2022). Dietary medium-chain 1-monoglycerides modulates the community and function of cecal microbiota of broilers. J Sci Food Agric., 102(6), 2242–2252. DOI: 10.1002/jsfa.11562.

Lyhs, U. (2009). Microbiological methods. Fishery Products: Quality, safety and authenticity, 318–348.

Mannelli, F., Minieri, S., Tosi, G., Secci, G., Daghio, M., Massi, P., Fiorentini, L., Galigani, I., Lancini, S., Rapaccini, S., Antongiovanni, M., Mancini, S., & Buccioni, A. (2019). Effect of Chestnut Tannins and Short Chain Fatty Acids as Anti-Microbials and as Feeding Supplements in Broilers Rearing and Meat Quality. Animals (Basel), 9(9), 659. DOI: 10.3390/ani9090659.

Micciche, A., Michael, J., Rothrock, Jr., Yang, Y., & Ricke, S. C. (2019). Essential Oils as an Intervention Strategy to Reduce Campylobacter in Poultry Production: A Review. Front Microbiol., 10, 1058. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01058.

Nedzvetsky, V. S., Sukharenko, E. V., Baydas, G., & Andrievsky, G. V. (2019). Water-soluble C60 fullerene ameliorates astroglial reactivity and TNFa production in retina of diabetic rats. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 10(4), 513–519. DOI: 10.15421/021975.

Salim, H. M., Huque, K. S., Kamaruddin, K. M., & Beg A. H. (2018). Global restriction of using antibiotic growth promoters and alternative strategies in poultry production. Sci Prog., 101(1), 52–75. DOI: 10.3184/003685018X15173975498947.

Scicutella, F., Mannelli, F., Daghio, M., Viti, C., & Buccioni, A. (2021). Polyphenols and Organic Acids as Alternatives to Antimicrobials in Poultry Rearing: A Review. Antibiotics (Basel), 10(8), 1010. DOI: 10.3390/antibiotics10081010.

Shang, Q. H., Liu, S. J., He, T. F., Liu, H. S., Mahfuz, S., Ma, X. K., & Piao, X. S. (2020). Effects of wheat bran in comparison to antibiotics on growth performance, intestinal immunity, barrier function, and microbial composition in broiler chickens. Poult Sci., 99(10), 4929–4938. DOI: 10.1016/j.psj.2020.06.031.

Shimaa, A. A., Samar, A. T., Dina, M. M. A., Doaa, M. A. F., Aziza, M. H., & Abdallah, E. M. (2021). Effect of supplemental glycerol monolaurate and oregano essential oil blend on the growth performance, intestinal morphology, and amino acid digestibility of broiler chickens. BMC Vet Res., 17(1), 312. DOI: 10.1186/s12917-021-03022-5.

Singh, V. P. (2018). Recent approaches in food bio-preservation – a review. Open Vet J., 8(1), 104–111. DOI: 10.4314/ovj.v8i1.16.

Sokale, A. O., Menconi, A., Mathis, G. F., Lumpkins, B., Sims, M. D., & Whelan, R. A. (2019). Effect of Bacillus subtilis DSM 32315 on the intestinal structural integrity and growth performance of broiler chickens under necrotic enteritis challenge. Poult Sci., 98(11), 5392–5400. DOI: 10.3382/ps/pez368.

Sun, Y., Ni, A., Jiang, Y., Li, Y., Huang, Z., Shi, L., Xu, H., Chen, C., Li, D., Han, Y., & Chen, J. (2020). Effects of Replacing In-feed Antibiotics with Synergistic Organic Acids on Growth Performance, Health, Carcass, and Immune and Oxidative Statuses of Broiler Chickens Under Clostridium perfringens Type A Challenge. Avian Dis., 64(3), 393–400. DOI: 10.1637/aviandiseases-D-19-00101.

Thanissery, R., McReynolds, J. L., Conner, D. E., Macklin, K. S., Curtis, P. A., & Fasina, Y. O. (2010). Evaluation of the efficacy of yeast extract in reducing intestinal Clostridium perfringens levels in broiler chickens. Poult Sci., 89(11), 2380–2388. DOI: 10.3382/ps.2010-00879.

Tolnai, E., Fauszt, P., Fidler, G., Pesti-Asboth, G., Szilagyi, E., Stagel, A., Konya, J., Szabo, J., Stundl, L., Babinszky, L., Remenyik, J., Biro, S., & Paholcsek, M. (2021). Nutraceuticals Induced Changes in the Broiler Gastrointestinal Tract Microbiota. mSystems, 2;6(2), e01124-20. DOI: 10.1128/mSystems.01124-20.

Zhang, L. Y., Peng, Q. Y., Liu, Y. R., Ma, Q. G., Zhang, J. Y., Guo, Y. P., Xue, Z., & Zhao, L. H. (2021). Effects of oregano essential oil as an antibiotic growth promoter alternative on growth performance, antioxidant status, and intestinal health of broilers. Poult Sci., 100(7), 101163. DOI: 10.1016/j.psj.2021.101163.