

ВІДГУК

офіційного опонента доктора ветеринарних наук, професора Головахи В.І. на дисертацію Лукашука Богдана Олександровича на тему: “Лікувально-профілактична ефективність пробіотика та фітобіотика за гастроентериту в поросят”, представлену на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.01 – діагностика і терапія тварин

Актуальність обраної теми. В Україні розвиток свинарства здійснюється в напрямку укрупнення господарств, концентрації поголів'я, автоматизації виробничих процесів, удосконалення раціональної годівлі, поліпшення племінної справи, здійснення профілактичних і лікувальних заходів на основі впровадження нових наукових досліджень.

Однак, особливості промислової технології вирощування разом із навантаженням на органи травлення і їх морфо-фізіологічні можливості порушують мікробні екосистеми травного каналу та призводять до розвитку шлунково-кишкових хвороб у свиней.

Для лікування і профілактики цих захворювань найчастіше використовують етіотропну терапію, яка має ряд недоліків. Так, за нецілеспрямованого використання антибіотиків у патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів з'являється стійкість до них, що знижує терапевтичний ефект і збільшує затрати на лікування.

Все це спонукає до необхідності пошуку ефективних і безпечних засобів профілактики і лікування захворювань тварин, які нормалізують травлення і ефективно корегують склад мікрофлори травного каналу. Поширеними з таких є пробіотики – біологічні препарати, в складі яких є симбіотичні мікроорганізми (лактобактерії, біфідобактерії, грампозитивні коки, дріжджі) або продукти їх метаболізму, які є нешкідливими для організму та екологічно чистими.

Останніми роками пробіотикотерапія доповнюється новими напрямками, такими як пребіотико- та фітобіотикотерапія, що потребують подальшого вивчення.

Вивченням вищевказаних засобів у ветеринарній медицині займалися І.Я. Коцюмбас, В.П. Литвин, Б.Т. Стегній, Л.І. Акименко, Д.А. Засекін, Р.Лін,

R.Pieper, R.Isaacson та інші. Всі ці автори відзначали, що про-, пре- та фітобіотики є ефективними для профілактики і лікування кишково-шлункових захворювань та дисбактеріозів, стимулюють неспецифічний імунітет, ріст і продуктивність тварин. Тому розробка, застосування та подальше вивчення пробіотиків і фітобіотиків у галузі свинарства є актуальним питанням ветеринарної медицини.

Дисертаційна робота є частиною програми “Розробка науково-обґрунтованих методів і засобів діагностики, профілактики і лікування незаразних хвороб тварин і птиці, які виникають на ґрунті порушення обміну речовин” (номер держ. реєстрації 0102U001336). Автор виконував розділ “Лікувально-профілактична ефективність пробіотика і фітобіотика за гастроентериту в поросят”.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота викладу в опублікованих працях. Дисертантом вперше отримано дані, які характеризують динаміку метаболічних процесів, еритро- та лейкоцитопоезу, клітинної і гуморальної ланок імунітету, мікробіоценозу, морфофункціонального стану органів травлення у поросят, хворих на гастроентерит, за впливу пробіотика ТОЙОЦЕРІН 10^9 та фітобіотика ЕКСТРАКТTM6930 в поєднанні з антибіотиком (10 %-вий розчин енрофлоксацину гідрохлориду). На основі вивчення клітинного і гуморального імунітету й кишкового мікробіоценозу встановлені нові аспекти патогенезу гастроентериту в підсисних і відлучених поросят в умовах сучасного свинокомплексу. Вперше теоретично та експериментально обґрунтовано ефективність фітобіотика ЕКСТРАКТTM6930 для профілактики гастроентериту в підсисних поросят у промисловому виробництві.

Наукова новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 100820 “Спосіб профілактики незаразних хвороб шлунково-кишкового тракту підсисних поросят” від 10.08.2015 року.

Практичне значення роботи полягає у експериментально обґрунтованій доцільності застосування в промисловому свинарстві фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930 у профілактиці гастроентериту підсисних поросят і пробіотика ТОЙОЦЕРІН 10⁹ та фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930 в поєднанні з антибіотиком (10 %-вий р-н енрофлораксацину гідрохлориду) у лікуванні відлучених поросят за гастроентериту.

Встановлено нормалізуючий вплив пробіотика ТОЙОЦЕРІН 10⁹ та фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930 на кишковий мікробіоценоз відлучених поросят, хворих на гастроентерит.

Досліджено патолого-анатомічні, патолого-морфологічні зміни за гастроентериту поросят до і після застосування пробіотика ТОЙОЦЕРІН 10⁹ та фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930. Вперше доведено ефективність застосування пробіотика ТОЙОЦЕРІН 10⁹ та фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930 у лікуванні відлучених поросят, хворих на гастроентерит.

Результати досліджень використовуються в науковій і навчальній роботі на кафедрах вищих навчальних закладів України: внутрішніх хвороб тварин Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького; терапії та клінічної діагностики Білоцерківського НАУ; внутрішніх хвороб тварин та клінічної діагностики Дніпровського ДАЕУ; ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії Подільського державного аграрно-технічного університету; терапії Полтавської державної аграрної академії; терапії, фармакології та клінічної діагностики імені професора А.Б. Байдевлятова Сумського НАУ. Розроблені методичні рекомендації “Гастроентерит поросят: діагностика та лікування”, які затверджені Головним управлінням Держпродспоживслужби у Львівській області (03.04.2017 р.).

Висновки (10) логічно відображають отримані результати.

Результати досліджень повністю висвітлені в 16 публікаціях (1 у міжнародному виданні, 15 у фахових журналах) та методичних рекомендаціях.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертація Лукащука Б.О. є традиційною за структурою. Вона викладена на 149 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 22 таблицями та 32 рисунками. Робота включає вступ, огляд літератури, вибір напрямів досліджень, матеріали та методи виконання роботи, 3 розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів досліджень, висновки та пропозиції виробництву, список використаних джерел і 19 додатків.

У роботі розділ “Огляд літератури” складається із 4 підрозділів, викладений на 23 сторінках із достатньою кількістю літературних джерел (342, у т.ч. – 154 латиницею), що вказує на високу кваліфікацію дисертанта в даній галузі.

У розділі дисертант описує особливості формування імунітету та травлення у поросят, поширення та етіологію гастроентериту, сучасні методи профілактики та лікування поросят за гастроентериту (включаючи використання органічних кислот і природних мінералів, вплив пробіотиків та пребіотиків на організм тварин, застосування фітобіотиків у свинарстві).

Розділ закінчується висновком в якому автор вказує, що постановка діагнозу на гастроентерит базується на проведенні імунологічних, морфологічних та мікробіологічних методів дослідження.

Для збереження здоров'я і підвищення продуктивності свиней важливим є врахування біологічних особливостей їх росту та розвитку в різні періоди життя, зменшення негативного впливу інтенсивних технологій і підвищення імунітету. Автор зазначає, що, згідно літературних джерел, фахівці ветеринарної медицини часто застосовують антимікробні засоби, що не завжди дає ефект, а часто є шкідливим для здоров'я тварин. Тому для запобігання виникненню гастропатології у свиней необхідно застосовувати безпечні і ефективні препарати якими є про-, пре- і фітобіотики, які були впроваджені у технології ветеринарно-профілактичних заходів щодо утримання поросят.

Розділ “Вибір напрямів досліджень, матеріал та методи виконання роботи” (написаний на 12 стор.) складається із 3 підрозділів: вибір напрямів досліджень; об’єкти дослідження, місце проведення досліджень; методи проведення досліджень (клініко-біохімічні, імунологічні, патоморфологічні, бактеріологічні).

У розділі 3 “Профілактична ефективність фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930 за гастроентериту підсисних поросят” дисертант описує поширення та причини гастроентериту в підсисних поросят. Зокрема, він вказує, що в господарстві у поросят найчастіше реєструється диспепсія (16 %) і гастроентерит (21 %), причинами яких є зміна типу годівлі, вікові імунні дефіцити. У 36 % поросят 12–48-годинного віку поширеною є гіпоглікемія (причина гіпо- і агалактія).

Додавання до престартерного комбікорму фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930 у дозі 0,15 г/кг підсисним поросятam сприяло збільшенню кількості еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів. Виявили позитивні зміни і в біохімічному спектрі крові. У поросят, яким згодовували фітобіотик ЕКСТРАКТ™6930 збільшується загальний протеїн, альбуміни, що свідчить про поліпшення протеїносинтезувальної функції печінки. Крім того, стабілізуються мітохондріальна і цитозольна структури гепатоцитів, на що вказують зниження активності АлАТ, АсАТ і ГГТП.

Згодовування підсисним поросятam фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930 впродовж 18 діб сприяло стимуляції Т-клітинного імунітету, на що вказує збільшення кількості Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій. Під дією препарату підвищується кількість β -лімфоцитів, що свідчить про здатність організму до активного синтезу захисних антитіл.

Одними із важливих показників природної резистентності є бактерицидна активність сироватки крові (БАСК) за якою визначають рівень гуморальних факторів та лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК), яка вказує на спроможність лізувати грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми.

Згідно досліджень, БАСК у дослідних поросят була більшою на 20-ту і 28-му добу ($p < 0,01$), що, очевидно, свідчить про підвищення функціональної активності клітин крові, які відповідають за продукцію опсонізуючих факторів. Таку ж закономірність виявили і при визначенні ЛАСК.

Згодовування ЕКСТРАКТ™6930 сприяло підвищенню ФАН крові на 20-ту та 28-му добу на 2,6 і 4,2 % ($p < 0,001$) відповідно.

Таку тенденцію відмічено і до ФІ, який був більшим на 11,4 і 8,3 %, відповідно, на 20-ту і 28-му добу життя.

Отже, введення фітобіотика у раціон поросят сприяло підвищенню інтенсивності фагоцитозу, тобто збільшенню перетравної здатності фагоцитуючих клітин, що свідчить про компенсаторну реакцію клітинної ланки природної резистентності на дефіцит гуморальних факторів імунітету.

Захворюваність поросят на гастроентерит у дослідній групі була на 9,5 % нижчою, а збереженість на 6,8 % більшою порівняно із контрольною групою. Середньодобові приваги маси тіла у поросят яким застосовували ЕКСТРАКТ™6930 були на 12,9 % більшими порівняно з контрольною групою.

У розділі 4 “Симптоми, показники крові та морфологічний стан органів і систем у поросят, хворих на гастроентерит” дисертант описує причини та клініко-гематологічний статус у відлучених поросят за гастроентериту. Встановлено, що у 13 % поросят періоду дорощування проявлявся гастроентерит. Його причиною була третя фаза імунного дефіциту, яка зумовлена відлученням поросят від свиноматки.

Гастроентерит у поросят проявлявся загальним пригніченням, гіпорексією, спрагою, діарейним синдромом, тахікардією, тахіпноє. У хворих тварин встановили поліцитемію (85 %), гіперхромемію (66,7 %), лейкоцитоз (80 %), мікроцитоз, гіпохромію, гіпер- (60 %) та гіпоальбумінемію (30), гіпоглікемію (63,3), гіперкреатинінемію (40,0), гіпербілірубінемію (60,0), гіперферментемію (АсАТ, АлАТ, ЛФ – 100) та ГГТП (у 93,3 %).

За гастроентериту у поросят зменшується кількість загальних Т- і Т-активних лімфоцитів та Т-хелперів на 13,7, 5,8 і 9,4 % відповідно. Низьким у хворих поросят був і імунорегуляторний індекс (ІРІ), який в середньому становив $1,4 \pm 0,04$, що на 12,5 % менше порівняно з клінічно здоровими. У хворих тварин низький гуморальний імунітет, показником якого є рівень β -лімфоцитів у крові. Кількість їх була на 10,3 % меншою, ніж у клінічно здорових. Меншими у хворих поросят були значення БАСК і ЛАСК. Низькими у поросят за гастроентериту були показники ФАН і ФІ, що свідчить про зниження інтенсивності фагоцитозу, тобто зменшення перетравної здатності фагоцитуючих клітин.

У кишечнику здорових тварин непатогенні та умовно-патогенні мікроорганізми знаходяться в стані симбіотичної рівноваги. У поросят, хворих на гастроентерит, встановили збільшення кількості умовно-патогенної мікрофлори у калових масах (КУО/г), а саме представників роду *Enterococcus* до $7,0 \pm 2,10 \cdot 10^7$ ($p < 0,05$), роду *Staphylococcus* до $3,9 \pm 1,38 \cdot 10^4$, бактерій *Escherichia coli* до $3,7 \pm 1,42 \cdot 10^8$, грибів роду *Candida* до $3,7 \pm 1,51 \cdot 10^4$ ($p < 0,05$) порівняно із клінічно здоровими.

У хворих поросят встановили зменшення молочнокислої мікрофлори роду *Bifidobacterium* до $3,0 \pm 2,07 \cdot 10^6$ та роду *Lactobacillus* до $2,5 \pm 1,87 \cdot 10^5$ порівняно з клінічно здоровими.

За гістологічного дослідження шлунка і тонкого кишечника у поросят за гастроентериту проявляються виражені ознаки гострого катарального десквамативного гастроентероколіту та помірно виражені розлади кровообігу в печінці (альтеративні зміни гепатоцитів) та нирках.

У розділі 5 “Ефективність застосування пробіотика ТОЙОЦЕРІН 10^9 та фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930 у лікуванні відлучених поросят, хворих на гастроентерит”, автор описує вплив даних препаратів на морфологічні, біохімічні та показники природної резистентності крові тварин.

Для цього було відібрано 3 групи тварин – контрольна і дві дослідні. Тварин контрольної групи лікували 10 %-вим розчином енрофлоксацину

гідрохлориду (внутрішньом'язово в дозі 0,5 мл/10 кг маси тіла впродовж 5 діб). Поросяттам першої дослідної групи додатково застосовували пробіотик ТОЙОЦЕРІН 10⁹ у дозі 0,5 г/кг комбікорму, другої – фітобіотик ЕКСТРАКТ™6930 у дозі 0,15 г/кг комбікорму до 45-денного віку.

Дисертантом доведено, що застосування поросяттам контрольної групи тільки антибіотика сприяє поліпшенню клінічного статусу на 7–9-у добу. В той же час, у першій і другій дослідних групах цей процес відбувався, відповідно, на 5–7-му та 3–5-ту добу.

Позитивні зміни виявлено і в крові. У поросят дослідних груп нормалізувалися показники еритроцитів, гемоглобіну, гематокритної величини, індексів “червоної” крові – МСН, МСV, МСНС, лейкоцитів та їх видового складу.

Після проведеного лікування у поросят відновлюється протеїносинтезувальна функція гепатоцитів, про що свідчать фізіологічні величини загального протеїну та альбумінів.

Застосування фітобіотика позитивно вплинуло на процеси глюконеогенезу в поросят, про що свідчать показники глюкози, які були більші на 15,6 % порівняно з величинами контрольної групи.

Застосування пробіотика і фітобіотика відновлює білірубіносинтезувальну функцію гепатоцитів, на що вказує вміст загального білірубіну, який у поросят першої і другої дослідних груп не відрізнявся від значень клінічно здорових тварин.

Після лікування у поросят обох дослідних груп стабілізувалися мітохондріальна і цитозольна структури гепатоцитів та зменшилися явища холестазу, що підтверджують фізіологічні значення активності амінотрансфераз – АсАТ, АлАТ, ГГТП та ЛФ.

Пробіотик ТОЙОЦЕРІН 10⁹ та фітобіотик ЕКСТРАКТ™6930 стимулюють Т-клітинний імунітет, на що вказує збільшення кількості Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій у крові до рівня показників клінічно здорових поросят.

Окрім того, ці препарати позитивно впливають на гуморальний імунітет, про що свідчать збільшення кількості β -лімфоцитів у крові до фізіологічних значень.

Після застосування пробіотика та фітобіотика нормалізуються показники гуморальної і клітинної ланок імунітету, а саме – підвищення БАСК, ЛАСК, ФАН і ФІ.

Після лікування у поросят, яким застосовували пробіотик ТОЙОЦЕРІН 10^9 та фітобіотик ЕКСТРАКТ™6930, у поєднанні з 10 % розчином енрофлоксацину гідрохлориду зменшується кількість умовно-патогенної мікрофлори до рівня показників клінічно здорових тварин та нормалізується молочнокисла мікрофлора в кишечнику, на що вказує збільшення кількості представників родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*.

У заключному 7 розділі “Аналіз і узагальнення результатів дослідження” (написаний на 21 сторінці) десертант досить ретельно проаналізував отримані експериментальні результати досліджень, які співставив із напрацюваннями науковців України та зарубіжжя (О.М. Вержиховський, С.В. Синенко, В.В. Чумаченко, Я.Я. Ковальчук, І.В. Кичун, О.І. Віщур, Н.З. Огородник, Н.Н. Куєвда, В.В. Великанов, Е.А. Бодяковская, Е.В. Курятова, А.М. Пашин.). Результати проведених експериментальних досліджень викладені у 10 висновках і 3 пропозиціях.

Зауваження та побажання до змісту дисертаційної роботи

Бажано було б в огляді літератури описати патогенез та клінічні ознаки захворювання.

На сторінках 28, 32, 67, 68, 126, 131, 132, 138, 139, 142, 148, 156, 179 – граматичні та стилістичні помилки.

с. 71, 129, 132, 133 – написано фізіологічна норма, а треба просто «норма», або фізіологічні коливання;

с.102 – показники вмісту загального протеїну та альбумінів у крові вказує на нормалізацію ..., а треба вказують і далі по тексту;

с. 103, 106 – написано вірогідно зменшився (якщо показник зменшився або збільшився – це вже є вірогідним), тому слово вірогідно – зайве;

с. 105 – в останньому рядку на сторінці пропущено вираз ... порівняно із ...;

с. 111 – у передостанньому абзаці ... тенденцію ($p < 0,05$) щодо зменшення кількості ..., а тенденції за такої вірогідності не буває;

с. 113. – після ...отже... – треба ставити кому;

с. 114, 115, 116, 119, 126 – слово ...кишечника..., а треба кишечнику;

с. 125 – правильно вживати молодняку;

с. 128, 129 – писати треба протеїносинтезувальна, а не білоксинтезувальна;

с. 129 – еритропоез, а треба еритроцитопоез;

с. 130 – написано м'язевої тканини, а треба м'язової тканини;

с. 131 – ...згідно з ... і цифри, а треба було б згідно даних авторів;

с. 135 – Е.Е. Куєвда, а треба Н.Н. Куєвда;

на с. 135 і 136 повторюється теж саме речення – Наведені нами дані, щодо збільшення гематокритної величини узгоджуються з результатами Н.Н. Куєвди [334].;

с. 137 – написано М.А. Пашином, а треба М.А. Пашиным;

с. 138 – Н.З. Огородник, а треба Н.З. Огородник;

с. 140 – апробувано, а треба апробовано;

На деяких сторінках (с. 128, 129, 130, 132) слід відредагувати речення, де вказано посилання на результати і дані. Вказати на які?

с. 149 – пропущено слово ... необхідно ...

– Чим поясните, що після лікування (с. 112) у першій дослідній групі бактерій родів *Bifidobacterium* і *Lactobacillus* більше, ніж у другій дослідній?

– Завдяки чому, після застосування пробіотика ТОЙОЦЕРІН 10⁹ та фітобіотика ЕКСТРАКТ™6930 поліпшується функціональний стан гепатоцитів та клітинна і гуморальна ланки імунітету?

– Чи можливо вилікувати поросят за прояву гастроентериту тільки пробіотиком ТОЙОЦЕРІН 10⁹?

В останньому розділі роботи бажано було б показати механізм дії пробіотика та фітобіотика на організм поросят у вигляді схеми.

У авторефераті повністю відображені основні положення дисертаційної роботи. Висновки і пропозиції є ідентичними.

Висновок. Вважаю, що дисертаційна робота Лукашука Богдана Олександровича на тему: “Лікувально-профілактична ефективність пробіотика та фітобіотика за гастроентериту в поросят”, представлена на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук є актуальною та завершеною науковою працею, яка відповідає вимогам п. 11 “Порядку присудження наукових ступенів” щодо кандидатських дисертацій, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 зі змінами, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.01 – діагностика і терапія тварин.

Офіційний опонент,
доктор ветеринарних наук,
декан факультету ветеринарної медицини,
професор кафедри терапії та клінічної діагностики
Білоцерківського НАУ
16.06.2018 р.

В.І. Головаха

Підпис професора Головахи В.І. затверджую:
Начальник відділу кадрів Білоцерківського НАУ

Д.В. Ромасишин



