



"Research Paper"

Effects of Bio-Equine Probiotics on Hematological and Oxidative Indices in Dareshoor Mares

Maryam Karimi-Dehkordi¹, Ali Sharifzadeh², Maryam Sami³ and Farnaz Pouriayevali⁴

1- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran, (Corresponding author: Ma_karimivet58@yahoo.com)

2- Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

3- D.V.M. Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

4- Department of Animal Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, Isfahan, Iran

Received: 24 Jun, 2022 Accepted: 6 February, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Probiotics, to an appropriate extent, are defined as living microorganisms with beneficial properties that have been accepted for both treatment and prevention of pathogens. The aim of this study was to investigate the effects of a diet containing probiotics on hematology and oxidative stress indices in Dareshoor mares.

Material and Methods: For this purpose, 5 horses were fed a diet containing probiotic Bio-Equine (10 g per day) for one month. Blood samples were taken before and after taking probiotics. In stages, complete blood count (Hematocrit, Red blood cell, White blood cell, and percentage of each), serum malondialdehyde levels, total antioxidant capacity, and glutathione peroxidase and superoxide dismutase enzymes were measured. The obtained data were analyzed using t-test statistical method.

Results: The results showed that the addition of probiotics to the diet had no effect on hematocrit and red blood cell count, but the number of white blood cells and the percentage of neutrophils and lymphocytes in the blood of horses increased with probiotic nutrition, although this increase was not significant ($P>0.05$). Consumption of probiotics for one month led to an increase in serum antioxidant status, although this increase was only significant for glutathione peroxidase ($P<0.001$).

Conclusion: Overall, the results showed that the addition of Bio-Equine probiotics to the diet improved the immunity and antioxidant activity of saline horses.

Keywords: Antioxidants, Blood Cell Count, Horses, Live microbial dietary supplements, Malondialdehyde, Oxidative Stress



"مقاله پژوهشی"

تاثیرات پروبیوتیک Bio-Equine بر شاخص‌های هماتولوژی و اکسیداتیو
در مادیان نژاد دره‌شورمریم کریمی دهکردی^۱، علی شریف‌زاده^۲، مریم سامی^۳ و فرناز پوری‌ولی^۴

۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران، (نویسنده مسئول: ma_karimivet58@yahoo.com)

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۳- دانشجوی دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۴- پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷

صفحه: ۱۰۲ تا ۱۰۹

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: پروبیوتیک‌ها در میزان مناسب، به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده با ویژگی‌های مفید تعریف می‌شوند که هم برای درمان و هم به‌عنوان روش پیشگیری کننده مرتبط با پاتوژن‌ها مورد قبول قرار گرفته‌اند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات جیره غذایی حاوی پروبیوتیک بر شاخص‌های هماتولوژی و استرس اکسیداتیو در اسب‌های نژاد دره‌شور است.

مواد و روش‌ها: برای این منظور، ۵ رأس اسب به مدت یک ماه با جیره غذایی حاوی پروبیوتیک بایواکوبین^۱ (روزانه ۱۰ گرم) تغذیه شدند. خونگیری در قبل و بعد از مصرف پروبیوتیک صورت گرفت. در هر دو مرحله، شمارش کامل سلول‌های خونی^۲ (هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد کل گلبول‌های سفید و درصد هر یک از آن‌ها)، سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید^۳، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی^۴ و آنزیم‌های گلووتاتیون پراکسیداز^۵ و سوپراکسیددسموتاز^۶ اندازه‌گیری و اطلاعات بدست آمده با استفاده از روش آماری آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی اثری بر هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خون نداشت اما تعداد گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل و لنفوسیت خون اسب‌ها در تغذیه با پروبیوتیک افزایش یافت، هر چند این افزایش معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). مصرف پروبیوتیک به مدت یک ماه منجر به افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم گردید که البته این افزایش فقط در مورد گلووتاتیون پراکسیداز معنی‌دار بود ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: در کل نتایج نشان داد که افزودن پروبیوتیک بایواکوبین به جیره غذایی، سبب بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم اسب‌های دره‌شور می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدانت‌ها، اسب، استرس اکسیداتیو، شمارش کامل سلول‌های خونی، مکمل غذایی میکروبی، مالون‌دی‌آلدهید

مقدمه

دستگاه گوارش اسب حاوی مجموعه‌ای قدرتمند از میکروارگانیسم‌هایی است که وظیفه هضم و جذب و فراوری مواد غذایی را به عهده دارند. جابجایی، آماده‌سازی برای مسابقات و تغییر جیره موجب استرس و عدم تعادل میکروبی دستگاه گوارش می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌ها سبب از بین رفتن باکتری‌های مضر و مفید دستگاه گوارش شده که چنین شرایطی موجب عوارضی همچون اسهال، سوءهاضمه، کم‌خونی و ضعف ایمنی می‌گردد. کره اسب‌ها، میکروفلور گوارشی خود را از محیط دریافت می‌کنند. در صورت عدم تعادل فلور میکروبی، هضم و جذب مواد غذایی، ویتامین‌ها و مواد معدنی، ناکافی خواهد بود و اسب دچار پیکا می‌شود. بر هم خوردن تعادل میکروبی دستگاه گوارش با ایجاد اختلال در عملکرد و حرکات دستگاه گوارش، منجر به شرایطی همچون یبوست، اسهال، انباشتگی و پیچ خوردگی می‌شود. عدم تعادل فلور میکروبی گوارشی یکی از مهم‌ترین علل کولیک‌های حاد و مزمن در اسب است. استرس، مشکلات گوارشی و کولیک‌های مزمن، کمبود ویتامین‌ها و عناصر معدنی موجب مشکلات رفتاری و عصبی در اسب می‌شود. سموم باکتری‌های مضر باعث افزایش نفوذپذیری روده و در نتیجه آسیب‌های دستگاه عصبی می‌شود. به دنبال تغییر ناگهانی رژیم غذایی از علوفه به کنسانتره، تعداد کل باکتری‌های بی‌هوازی زنده و لاکتوباسیل‌ها در سکوم افزایش می‌یابد، در

حالی که باسیل‌ها، باکتری‌های زایلانولیتیک و پکتینولیتیک کاهش می‌یابند. این تغییرات در اکوسیستم میکروبی با کاهش اسیدیته سکوم همراه است (۲۶). بسیاری از مشکلات اندام‌های حرکتی همچون لامیناییتیس نتیجه مستقیم عدم تعادل میکروفلور گوارشی و سموم مترشحه از باکتری‌های گرم منفی است. مطالعه‌ای در گذشته ارتباط بین این بیماری‌ها و اختلالات روده‌ای را بررسی کرده‌است. استفاده از غلات در جیره اسب می‌تواند منجر به تغییر میکروفلور و ویژگی‌های بیوشیمیایی محتوای روده بزرگ شود (۲۲). تغذیه سطوح زیاد نشاسته در جیره، قابلیت هضم نشاسته در روده کوچک را کاهش داده و باعث عبور بخشی از آن به روده بزرگ می‌شود. تخمیر نشاسته در روده بزرگ، سبب تغییر در جمعیت میکروبی این ناحیه، کاهش اسیدیته و ایجاد آسیب‌های پاتولوژی و بروز بیماری‌های متابولیکی مثل کولیک و لنگش می‌شود (۱۳).

در این راستا استفاده از مکمل‌های غذایی در جهت افزایش قابلیت هضم غذا و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی و ایمنی اسب‌ها اهمیت زیادی دارد. پروبیوتیک‌ها، مکمل‌های غذایی میکروبی هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده، اثرات سودمندی بر میزبان خود (دام، طیور و آبزیان) می‌گذارند. پروبیوتیک‌ها می‌توانند باکتریال یا مخمیری باشند. پروبیوتیک‌ها، به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده با ویژگی‌های مفید تعریف می‌شوند که برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها

1-Bio-Equine
5- Glutathione Peroxidase (GPx)

2- Blood Cell Count
6- Super Oxide Dismutase (SOD)

3- Malondialdehyde (MDA)

4- Total Antioxidant Capacity (TAC)

اینتروکوکوس فاسیوم^۲، لاکتوباسیلوس کازئی^۴، پدیوکوکوس اسیدی لاکتیزی^۵، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم^۶، باسیلوس سوبتیلیس^۷، ساکارومایسس سرویزیه^۸، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس^۹ و لاکتوباسیلوس رامنوس^{۱۱} با توتال کانت ۱۰^۸ واحد تشکیل کلونی^{۱۱} در گرم می‌باشد.

خونگیری در دو مرحله‌ی قبل و بعد از دوره‌ی مصرف پروبیوتیک در دو سری لوله، حاوی ضد انعقاد (برای ارزیابی‌های همولوژی) و فاقد ضد انعقاد (جهت جداسازی سرم و ارزیابی پارامترهای اکسیداتیو) انجام شد. در آزمایشگاه، نمونه‌ها از نظر هماتوکریت، تعداد کلی گلبول قرمز، تعداد کلی گلبول سفید و درصد هر یک از آنها نوتروفیل، ائوزینوفیل، لنفوسیت و مونوسیت بررسی گردید. خون‌های فاقد ضد انعقاد، سانتریفیوژ شده و سرم حاصله تا زمان انجام آزمایشات بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که به دلیل پایداری پایین و حساسیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سعی شد در اولین فرصت سنجش آنزیمی نمونه‌های سرم انجام شود.

ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم با استفاده از روش فرپ^{۱۲} اندازه‌گیری شد. اساس این روش، توانایی سرم در احیای یون‌های فریک (Fe+3) به فرو (Fe+2) در حضور معرفی به نام تری‌پری‌دیل‌اس‌تریازین می‌باشد. در این روش واکنش Fe+2 با معرف تریس (۲‌پی‌ری‌دیل) - اس‌تری‌آزین^{۱۳} کمپلکس آبی‌رنگ Fe+2-TPTZ را با خاصیت حداکثر جذب نوری در طول موج ۵۹۳ نانومتر ایجاد می‌کند که میزان قدرت احیاکنندگی سرم از طریق افزایش غلظت کمپلکس فوق توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) اندازه‌گیری می‌شود (۷).

برای اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلیدید سرم، از یک محلول کار حاوی ۰/۵ گرم تیوباریتوریک‌اسید (-CAS-number 504- Merck, Germany 17-6) و ۸۰ میلی‌لیتر اسیداستیک ۲۰ درصد (CAS-number 64-19-7, Merck, Germany) استفاده شد. اسیدیته این محلول، به کمک هیدروکسیدسدیم (CAS-number 1310-73-2, Merck, Germany) به ۳/۵ و حجم نهایی آن با افزودن اسیداستیک ۲۰ درصد، به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعد ۲/۵ میلی‌لیتر از این محلول کار را همراه ۱۰۰ میکرولیتر سرم و ۱۰۰ میکرولیتر سدیم دودسیل سولفات (۱/۸ درصد) (-CAS-number 151- Merck, Germany 21-3) در لوله آزمایش شیشه‌ای ریخته و با درپوش آلومینیوم درب لوله‌ها بسته شد. لوله‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار گرفتند و پس از سرد شدن، در ۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Mpw 260r, Poland) شدند. سپس جذب نوری محلول رویی توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۵۲۳ nm ثبت شد (۱۸).

جهت تعیین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، از کیت شرکت زلبیو^{۱۴} (ZB-SOD96) و طبق پروتکل موجود در کیت استفاده شد. به این منظور، میزان ۱۰ میکرولیتر از هر سرم مورد استفاده قرار گرفت و بعد از افزودن محلول‌های

مورد قبول قرار گرفته‌اند. رایج‌ترین پروبیوتیک‌های مورد استفاده، باکتری‌هایی از جنس‌های لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم و استرپتوکوک و همچنین مخمر ساکارومایسس هستند. یکی از باکتری‌های گرم مثبت که در تولید پروبیوتیک‌ها استفاده می‌شود، اینتروکوکوس فاسیوم است که به رشد و تقویت سیستم ایمنی در تک معده‌ای‌ها کمک می‌کند (۳۵). چندین مطالعه متاآنالیز، اثربخشی بالینی پروبیوتیک‌ها را در بیماری‌های مختلف (از جمله عفونت حاد گوارشی و التهاب روده) تایید می‌کند (۳۰). مکانیسم عمل پروبیوتیک‌ها از طریق حذف رقابتی باکتری‌های بیمارزا از طریق تولید ترکیبات بازدارنده، افزایش تغذیه از طریق تولید آنزیم‌های گوارشی، جذب مستقیم مواد آلی، افزایش پاسخ ایمنی در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و اثرات ضد ویروسی می‌باشد (۶). از اثرات تعدیل‌کننده‌ی ایمنی پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش، می‌توان به اثر بوتیرات که باعث تمایز سلول‌های T تنظیمی در روده می‌شود اشاره کرد. علاوه بر آن پروبیوتات باعث افزایش لنفوسیت‌های T تنظیمی می‌شود (۵). از طرف دیگر باسیلوس‌های موجود در جیره مواد غذایی حاوی پروبیوتیک می‌تواند سیستم ترشحی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن را تحریک و ترشح آنتی‌اکسیدان‌ها را افزایش دهد. این آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند به طور موثر رادیکال‌های آزاد اضافی تولید شده توسط متابولیسم بالا و استرس‌های محیطی نامطلوب را حذف و تعادل رادیکال‌های آزاد بدن را تنظیم کرده و آسیب‌های ناشی از آن در بافت‌ها و ارگان‌ها را ترمیم کنند (۳۳).

اثرات مفید استفاده از پروبیوتیک‌ها طی مطالعات مختلف، در گونه‌های زیادی از حیوانات مورد تایید قرار گرفته‌است، اما تاکنون تحقیقات کمی در ارتباط با اثر پروبیوتیک‌ها بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی اسب‌ها خصوصاً اسب‌های نژاد بومی ایران صورت گرفته‌است. مکمل پروبیوتیک بایواکوبین^۱ با برند بایودپ^۲، ترکیبی از ۸ سویه باکتریال و مخمري است که به‌طور اختصاصی برای اسب فرموله شده‌است. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی چگونگی تاثیر این پروبیوتیک بر شاخص‌های هماتولوژی و اکسیداتیو در اسب‌های دره‌شور می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بر روی ۵ رأس اسب ماده سالم نژاد دره‌شور انجام شد. تمامی اسب‌ها سالم و غیرآبستن بودند و از لحاظ وزن و شکم‌زایش در شرایط یکسان قرار داشتند (تقریباً ۵۰۰ کیلو گرم و دو زایش). اسب‌ها بر پایه ۶۰ درصد علوفه و غلات و ۴۰ درصد یونجه تغذیه می‌شدند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (قبل از مصرف پروبیوتیک) و گروه تیمار (پس از مصرف پروبیوتیک) بودند. اسب‌ها به مدت یکماه با جیره غذایی حاوی پروبیوتیک تغذیه شدند. بر اساس توصیه کارخانه سازنده به مدت یکماه روزانه مقدار ۱۰ گرم از پروبیوتیک بایواکوبین حاوی ۸ سویه باکتریال و مخمري با نام تجاری بایودپ ساخت کشور ایران همراه با خوراک، صبح به اسب‌ها خورانده شد. این پروبیوتیک شامل باکتری‌های

4 Bio-Equine 2- BioDEP 3- *Enterococcus faecium* 4- *Lactobacillus casei* 5- *Pediococcus acidilactici* 6- *Bifidobacterium bifidum* 7- *Bacillus subtilis* 8- *Saccharomyces cerevisiae* 9- *Lactobacillus acidophilus* 10- *Lactobacillus rhamnosus* 11- CFU (Colony Forming Unit) 12- Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) 13- 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) 14- Zellbio

نتایج و بحث

طبق جدول ۱، گلبول‌های سفید و درصد هر یک از آنها (نوتروفیل، لنفوسیت، اتوزینوفیل و مونوسیت) در اسب‌های مورد مطالعه بعد از مصرف پروبیوتیک نسبت به قبل از پروبیوتیک افزایش یافت، هر چند در هیچ کدام از موارد معنی‌دار نبوده است ($p>0.05$). هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خون نیز با مصرف پروبیوتیک افزایش یافت ولی معنی‌دار نبود ($p>0.05$). مقادیر سرمی شاخص‌های اکسیداتیو در قبل و بعد از مصرف پروبیوتیک، در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج این قسمت نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان تام سرم، گلوکاتینون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بعد از مصرف پروبیوتیک نسبت به قبل از پروبیوتیک افزایش یافته که تنها در شاخص گلوکاتینون پراکسیداز معنی‌دار بوده است ($p<0.001$). مصرف پروبیوتیک اگر چه باعث کاهش مالون‌دی‌آلدهید شد ولی معنی‌دار نبود ($p>0.05$).

موجود در کیت، میزان جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

برای تعیین میزان آنزیم گلوکاتینون پراکسیداز هم از کیت شرکت زلیو (ZB-GPX96) و سوپسترای پراکسید هیدروژن موجود در کیت، طبق پروتکل مربوطه استفاده شد. بدین منظور، میزان ۱۰ میکرولیتر از هر سرم مورد استفاده قرار گرفت و بعد از افزودن محلول‌های موجود در کیت، میزان جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۶ و برای مقایسه میانگین داده‌ها در بین دو گروه از آزمون تی تست استفاده شد.

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های هماتولوژی در اسب‌ها قبل و بعد از مصرف پروبیوتیک (Mean±Se)

P-value عدد پی	After probiotic بعد از پروبیوتیک	Before probiotic قبل از پروبیوتیک	Hematology parameters شاخص‌های هماتولوژی
0.2	42.4±1.9	39±2.2	Hematocrit (%)
0.7	8.47±1.5	7.85±0.49	Red blood cell (10 ⁶ /μl)
0.4	9640±1782.3	8100±407.7	White blood cell (μl)
0.9	49±5.4	48.6±4.6	Neutrophil (%)
0.7	49±5.4	46.6±5.2	Lymphocyte (%)
0.7	1.5±0.2	1.4±0.2	Eosinophil (%)
0.8	1±0.5	0.6±0.4	Monocyte (%)

جدول ۲- مقایسه میانگین مقادیر سرمی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در اسب‌ها قبل و بعد از مصرف پروبیوتیک (Mean±Se)

P-value عدد پی	After probiotic بعد از پروبیوتیک	Before probiotic قبل از پروبیوتیک	Oxidative stress index شاخص‌های استرس اکسیداتیو
0.5	546.1±3.7	418.2±2.3	TAC ¹ (μl)
<0.001	74.2±1.6	44.6±4.5	GPx ² (U/ml)
0.9	42.2±1.5	41.8±4.7	SOD ³ (U/ml)
0.6	0.07±0.02	0.09±0.03	MDA ⁴ (μl)

¹Total Antioxidant Capacity; ²Glutathione Peroxidase; ³Super Oxide Dismutase; ⁴Malondialdehyde

میزان مصرف پروبیوتیک، شرایط محیطی و استرس‌ها از عواملی هستند که سبب تغییرات قابل توجهی در ویژگی‌های خونی می‌شوند (۹). در مطالعه ناولز و همکاران (۱۶)، هم راستا با نتایج مطالعه ما، هیچ تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مورد مطالعه از گوساله‌ها در طی ۱۰ روز ابتدای مطالعه در هماتوکریت و گلبول‌های قرمز خون مشاهده نشد. از این رو مدت زمان مصرف پروبیوتیک می‌تواند در چگونگی تاثیر آن بر پارامترهای هماتولوژی اثرگذار باشد. به طور مشابه، افزودن پروبیوتیک پروتکسین به خوراک میش‌های لری‌بختیاری در ماه آخر آبستنی، تاثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های هماتولوژی این حیوانات نداشت (۱۰). کاهش شاخص‌های اریتروسیتهی خون به دلیل کم‌خونی رخ می‌دهد. در طی کم‌خونی، احتمالاً کاهش در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده می‌شود که ممکن است به دلیل خونریزی، همولیز یا کاهش تولید گلبول‌های قرمز صورت پذیرد (۱۲). در مطالعه حاضر، تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت خون اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. می‌توان نتیجه گرفت که

تاثیر پروبیوتیک بر شاخص‌های هماتولوژی

شاخص‌های خونی نقش مهمی در ارزیابی وضعیت سلامتی، استرس محیطی و تغذیه دارند. در مطالعات انجام شده نشان داده شده که این پارامترها تحت تاثیر مصرف پروبیوتیک قرار می‌گیرند. البته مطالعات کمی در مورد شاخص‌های خونی اسب‌ها در پاسخ به محرک‌های رشد از جمله پروبیوتیک‌ها در دسترس می‌باشد. در این مطالعه اثر مکمل پروبیوتیکی روی شاخص‌های هماتولوژی در اسب‌های نژاد دره‌شوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خون، همچنین تعداد گلبول‌های سفید و درصد هر یک از آنها پس از مصرف پروبیوتیک نسبت به قبل از آن افزایش یافته اما اختلاف معنی‌دار بین این دو گروه در هیچ کدام از این پارامترها مشاهده نشد. بر طبق مطالعات گذشته که تاثیر پروبیوتیک بر روی فاکتورهای هماتوکریت، گلبول قرمز و سفید خون بر روی حیوانات مختلف صورت گرفته‌است نتایج متفاوتی وجود دارد که به عوامل گوناگونی مرتبط می‌دانند. مطالعات پیشین نشان می‌دهد که مدت و

تأثیر پروبیوتیک بر شاخص‌های اکسیداتیو

استرس اکسیداتیو مسئول واکنش‌های زنجیره‌ای است که به DNA، پروتئین و لیپیدها آسیب می‌رساند و منجر به مرگ سلولی و نکروز بافت می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها این واکنش‌های زنجیره‌ای را متوقف می‌کنند (۲). در طول تکامل، بیشتر موجودات زنده دارای دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و دفاع آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی شامل گلوکاتایون، ویتامین‌سی و ویتامین‌ای هستند که در برابر استرس اکسیداتیو از آنها محافظت می‌کنند (۳۳). اگرچه تقریباً همه موجودات دارای دفاع آنتی‌اکسیدانی هستند، اما تحت شرایط خاصی این سیستم قادر به جلوگیری از کل آسیب ناشی از گونه‌های واکنشگر اکسیژن نیست. بنابراین، آنتی‌اکسیدان‌های اگزورژن اغلب به صورت مکمل غذایی در جهت بهبود سلامتی استفاده می‌شوند. افزودنی‌های آنتی‌اکسیدانی با استفاده از موادی که اکسیداسیون بسترهای سلولی را به تأخیر می‌اندازند یا از آن جلوگیری می‌کنند، قادر به محافظت از بدن در برابر آسیب اکسیداتیو هستند. اگرچه چندین آنتی‌اکسیدان مصنوعی، از جمله هیدروکسی آنیزول بوتیله و هیدروکسی تولوئن بوتیله، به طور گسترده در به تعویق انداختن اکسیداسیون لیپید استفاده شده‌است، اما ایمنی آنها اخیراً به دلیل آسیب کبدی و سرطان‌زایی مورد بحث قرار گرفته‌است و گزارش شده‌است که سایتوتوکسیک هستند (۳۷). بنابراین، در سال‌های اخیر، یافتن آنتی‌اکسیدان‌های ایمن‌تر و طبیعی‌تر از منابع زیستی برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی توجه زیادی را به خود جلب کرده است.

میکروب‌های مفید به دلیل ترشح متابولیت‌های آنتی‌کسیدانی، می‌توانند منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی باشند. شواهد نشان داده است که باکتری‌های پروبیوتیک توانایی‌های آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هم در داخل بدن و هم در شرایط آزمایشگاهی دارند (۳۲). از این رو، با توجه به افزایش محبوبیت باکتری‌های پروبیوتیک، در این مطالعه، توانایی آنتی‌اکسیدانی پروبیوتیک اختصاصی بیه دیپ، ترکیبی متشکل از ۸ سویه باکتریایی و مخمري، در شرایط آزمایشگاهی در اسب ارزیابی گردید. نتایج این مطالعه، افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم را به صورت افزایش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی، گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز پس از مصرف پروبیوتیک نشان می‌دهد، هر چند این افزایش فقط در مورد گلوکاتایون پراکسیداز معنی‌دار بوده‌است. خواص آنتی‌اکسیدانی برخی از سویه‌های باکتریایی موجود در این پروبیوتیک توسط برخی از نویسندگان گزارش شده‌است. باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک به طور کلی به عنوان میکروارگانیسم‌های غذایی ایمن در نظر گرفته می‌شوند. آنها دارای خواص ارزشمند مختلفی مانند ضد میکروبی، ضد کلسترول، آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب و ضد تومور هستند (۸). سویه‌های باکتری اسید لاکتیک به عنوان یک پروبیوتیک به طور گسترده در حیوانات و انسان مورد مطالعه قرار گرفته‌است و مشخص شده‌است که

مصرف پروبیوتیک عارضه‌ای مبنی بر کم‌خونی نشان نمی‌دهد. تعداد گلبول‌های سفید و درصد هر یک از آنها، یکی از شاخص‌های مهم سلامتی و وضعیت سیستم ایمنی بدن می‌باشد، زیرا آمادگی بدن در برابر دفاع سلولی را نمایان می‌سازد. اما افزایش شدید گلبول‌ها نیز بیانگر التهاب بالینی بوده و هجوم انگل‌ها و باکتری‌ها را نشان می‌دهد (۳۵). در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط، کاهش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر سرکوب ایمنی موجود و افزایش میزان آنها نشان‌دهنده پاسخ به استرس یا عفونت باشد (۱). همچنین در مطالعه استرومپفوا و همکاران (۲۸) نشان داده شده‌است که تغذیه بچه خوک‌ها با مکمل‌های پروبیوتیک، تعداد کل لکوسیت‌ها را افزایش داده‌است درحالی که تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت تفاوت معنی‌داری نداشته‌اند. در مطالعه ما نیز افزایش تعداد لکوسیت‌ها و درصد نوتروفیل و لنفوسیت مشاهده شد هرچند معنی‌دار نبود، با این حال می‌تواند نشان‌دهنده تحریک سیستم ایمنی باشد. تمامی این مطالعات اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها را بر شاخص‌های خونی تأیید می‌کنند.

در خصوص تأثیر پروبیوتیک‌ها بر شاخص‌های هماتولوژی، گزارش‌های متفاوتی وجود دارد. از دلایل احتمالی این تفاوت می‌توان تفاوت در میزان و نوع سویه باکتری موجود در پروبیوتیک را نام برد. میزان تأثیر یا عدم تأثیر پروبیوتیک‌ها احتمالاً به توانایی این میکروب‌ها برای ماندگاری در محیط دستگاه گوارش و رسیدن به قسمت‌های انتهایی و کلونیزه شدن در این قسمت نیز مربوط می‌باشد (۲۱). با توجه به بررسی منابع صورت گرفته، تحقیقات اندکی به بررسی آثار پروبیوتیک در جیره اسب پرداخته‌اند. در تحقیقی اشاره شده است که برای مشاهده بهبود در قابلیت هضم با افزودن پروبیوتیک، باید میزان نشاسته جیره بیشتر باشد تا انتهای دستگاه گوارش اسیدی‌تر باشد (۲۹). در این مورد هم شاید همین طور باشد یعنی نوع و میزان ترکیبات جیره ممکن است بر نحوه تأثیرگذاری پروبیوتیک‌ها موثر بوده باشد و همین امر سبب اختلاف در نتایج این مطالعه با مطالعات دیگر باشد. این احتمال نیز وجود دارد که مقدار میکروب زنده وارد شده از راه جیره به اندازه کافی نبوده و باید روزانه مقدار بیشتری میکروب زنده از طریق پروبیوتیک به جیره اضافه شود تا تأثیرات معنی‌داری نمایان شود. به طور کلی، اهمیت شاخص‌های خونشناسی به دلیل اثرپذیری آنها از تغییر شرایط فیزیولوژی، محیطی و تغذیه‌ای اسب است، همچنین تغییر این شاخص‌ها می‌تواند بیانگر وضعیت ایمنی و سلامتی اسب‌ها باشد. این تحقیق نشان می‌دهد پروبیوتیک اثر کاهشی بر هماتوکریت و گلبول‌های قرمز نداشته و سبب افزایش شدید گلبول‌های سفید و نوتروفیل خون نیز نشده‌است که مطالعات بیشتر در این زمینه را می‌طلبد. در مجموع، تغذیه روزانه اسب‌ها با افزودن ۱۰ گرم پروبیوتیک به ازای هر رأس حیوان در جیره، تأثیری بر شاخص‌های هماتولوژی خون نداشت. به هر حال، تأثیر سطوح بالاتر این پروبیوتیک در جیره اسب در دوره‌های آزمایشی پیوسته و طولانی‌تر می‌تواند بررسی شود.

می‌تواند در برابر رادیکال‌های آزاد، از جمله رادیکال‌های پراکسید، آنیون‌های سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل مقاومت کند (۱۷). گونه لاکتوباسیلوس انرا بهترین میزان بقا را در روده انسان دارد و با تولید متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی را ارائه می‌دهد. با این حال، این ویژگی‌ها و اثرات، اختصاصی سویه هستند و بنابراین، سویه‌های بیشتری باید مشخص و مورد مطالعه قرار گیرند. گزارش شده‌است که باکتری‌های اسید لاکتیک مانند لاکتوباسیلوس رامنوس^۱، لاکتوباسیلوس برویس^۲ و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس^۳ موجود در اکوسیستم میکروبی روده به ارتقای سلامت میزبان کمک می‌کنند (۳۴). از ویژگی‌های اصلی تعیین‌کننده وجود چنین باکتری‌هایی در روده می‌توان به تحمل اسید و صفرا و رقابت با فلور میکروبی (خاص پروبیوتیک) آنها اشاره کرد. پروبیوتیک‌ها معمولاً به صورت خوراکی تجویز می‌شوند، بنابراین سویه‌ها باید توانایی زنده ماندن در عبور از معده و دوازدهه را داشته باشند، جایی که اسیددینه پایین است و صفرا اضافه می‌شود. بنابراین، مقاومت در برابر اسیددینه پایین و تحمل نمک صفراوی از خواص مهم میکروب‌های مفید در نظر گرفته می‌شود (۱۴).

در دهه‌های اخیر، بسیاری از مطالعات، قدرت آنتی‌اکسیدانی پروبیوتیک‌ها را تایید می‌کنند و مشخص شده‌است که این ترکیبات می‌توانند بیماری‌های مختلف را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو بهبود بخشند. نتایج این مطالعه نیز قدرت آنتی‌اکسیدانی پروبیوتیک بایواکوبین را نشان می‌دهد. در توجیه قدرت آنتی‌اکسیدانی پروبیوتیک‌ها به چند مورد می‌توان اشاره کرد: میکروب‌های مفید از طریق ترشح یا آزادسازی متابولیت‌های درون یا خارج سلولی با ماهیت آنتی‌اکسیدانی، یا با ایفای مستقیم نقش در پاکسازی اکسیژن واکنش‌پذیر، توانایی آنتی‌اکسیدانی دارند و در حفظ سلامتی مفید هستند. پروبیوتیک‌ها می‌توانند متابولیت‌های مختلفی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون، بوتیرات و فولات تولید کنند (۲۴). مانند حیوانات، پروبیوتیک‌ها نیز سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی خاص خود را دارند. یکی از شناخته شده ترین این آنزیم‌ها، سوپراکسیددسموتاز است. اگرچه فعالیت آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددسموتاز به خوبی شناخته شده‌است، اما به دلیل نیمه عمر کوتاه آن در گردش خون، کاربرد درمانی سوپراکسیددسموتاز محدود است. باکتری‌های پروبیوتیکی که قادر به تولید موضعی سوپراکسیددسموتاز هستند، رویکرد جدیدی را برای بیماری‌های روده که با تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن^۴ مشخص می‌شود، باز می‌کند. اخیراً، در مطالعه‌ای تأثیر سویه‌های لاکتوباسیلوس کازئی که سوپراکسیددسموتاز تولید می‌کنند بر روی موش‌های مبتلا به بیماری کرون بررسی شده‌است. نتایج آنها نشان داد که موش‌های دریافت‌کننده سویه‌های لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به موش‌های گروه کنترل، بهبود سریع‌تری از نظر کاهش وزن اولیه، افزایش فعالیت آنزیمی در روده و میزان کمتر التهاب روده داشتند (۱۹). علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها همچنین می‌توانند سیستم آنتی‌اکسیدانی میزبان را تحریک

کرده و فعالیت آنتی‌اکسیدازها را به طور موثر افزایش دهند. مطالعات روی خوک‌ها نشان داد که مکمل غذایی لاکتوباسیلوس فرمنتوم می‌تواند سوپراکسیددسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز سرم، کاتالاز کبدی و سوپراکسیددسموتاز عضلانی را در مقایسه با گروه کنترل افزایش دهد (۳۱). علاوه بر این، در مطالعه آلوونگ و همکاران (۴)، مصرف پروبیوتیک حاوی مخمر در دوزهای مختلف، فعالیت سرمی گلوتاتیون پراکسیداز جوجه‌ها را افزایش داد. همچنین افزودن مکمل ترکیبی حاوی پروبیوتیک و آنزیم به جیره غذایی مرغ‌های تخم‌گذار، موجب افزایش معنی‌دار ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت سوپراکسیددسموتاز خون شد (۱۵). همسو با این نتایج، در تحقیقات در انسان افزایش فعالیت سوپراکسیددسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز و همچنین افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل در بیماران دیابتی نوع ۲ که دریافت‌کننده ماست حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس بودند، نشان داده شده است (۱۱). علاوه بر این، سطح گلوتاتیون احیا و بیوستنز گلوتاتیون احیا نیز در موش‌های تحت درمان با پروبیوتیک‌ها به منظور کاهش استرس اکسیداتیو در پانکراتیت حاد افزایش یافت (۲۰). از این رو با مطالعه ما در جهت افزایش معنی‌داری در سطح گلوتاتیون پراکسیداز هم‌راستا می‌باشد.

در این مطالعه اگر چه مقدار مالون‌دی‌آلدیید پس از مصرف پروبیوتیک تغییر معنی‌داری نداشت، ولی مصرف روزانه ۱۰ گرم پروبیوتیک به مدت ۱۰ روز توانسته میزان آن را کاهش دهد. مالون‌دی‌آلدیید حاصل پراکسیداسیون لیپیدی است و به طور غیرمستقیم نشان‌دهنده میزان آسیب به سلول‌ها می‌باشد. پراکسیداسیون لیپیدی نشانگر مرگ سلولی است. افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدیید نشان‌دهنده وقوع استرس اکسیداتیو در سطح متوسط در التهاب و در طی بیماری است. پروبیوتیک‌ها با تغییر میکروفلور روده، بر متابولیسم تری‌گلیسیریدهای پلازما اثر گذاشته و متعاقباً باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و مالون‌دی‌آلدیید خواهد شد (۳). در مطالعه حاضر این اثر مشهود است هرچند معنی‌دار نیست.

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر، افزایش سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها (ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز) و کاهش سطح شاخص استرس اکسیداتیو (مالون دی‌آلدیید) با مصرف پروبیوتیک، نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی پروبیوتیک بایواکوبین است. در نهایت می‌توان گفت استفاده از پروبیوتیک بایواکوبین به عنوان یک پروبیوتیک پیشنهادی می‌تواند موثر باشد. با توجه به مطالعات انجام شده و نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان بر اثرات آنتی‌اکسیدانی رژیم‌های غذایی حاوی پروبیوتیک از طریق کاهش استرس اکسیداتیو تأکید کرد و بر اساس مطالعات پیشین انجام شده در حیواناتی با بیماری‌هایی که منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شوند می‌تواند مورد استفاده قرار گیرند.

1- *Lactobacillus rhamnosus*2- *Lactobacillus brevis*3- *Lactobacillus acidophilus*

4- Reactive Oxygen Substrate (ROS)

منابع

- Adams, S.M. 2002. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society, 219:644
- Adesulu, D.A.T., A.I. Sanni and K. Jevaram K. 2018. Production, characterization and In vitro antioxidant activities of exopolysaccharide from *Weissella cibaria* GA44. LWT Food Science Technology, 87:432-42. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.013>
- Ahn, M., J. Kim, H. Bang, J. Moon, G.O. Kim and T. Shin. 2016. Hepatoprotective effects of allyl isothiocyanate against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat. *Chemico-Biological Interactions*, 254:102-108. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.05.037>
- Aluwong, T., M. Kawu, M. Raji, T. Dzenda, F. Govwang, V. Sinkalu and J. Ayo. 2013. Effect of yeast probiotic on growth, antioxidant enzyme activities and malondialdehyde concentration of broiler chickens. *Antioxidants*, 2: 326-339. <https://doi.org/10.3390/antiox2040326>
- Arpaia, N., C. Campbell, X. Fan, S. Dikiv, J. Van Der Veeke, P. Deroos, H. Liu, J.R. Cross, K. Pfeffer, P.J. Coffey and A.Y. Rudensky. 2013. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*, 504(7480): 451-455. <https://doi.org/10.1038/nature12726>
- Balcazar, J.L., I. De Blas, I. Ruiz-Zarzuela, D. Cunningham, D. Vendrell and J.L. Mu zquiz. 2006. The role of probiotics in aquaculture (Review). *Veterinary Microbiology*, 114:173-86. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.01.009>
- Benzie, I.F and J.J. Strain. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299: 15-27. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)
- Bukhari S.M., M. Iram, T. Lijie, M. Sunting, H.L. Mang, G. Abbas, I. Baboo and Y. Li. 2017. Coherence and colonization characteristics of recombinant lactobacillus under simulated gastric conditions within chicken GI tract and its impact on chicken growth. *Pakistanian Veterinary Journal*, 37: 381-386
- Coppo, J.A., N.B. Coppo, M.A. Revidatti and A. Capellari. 2000. Leukogram changes in early weaned zebu crossbred calves. *Revista Veterinaria*, 10: 14-21.
- Doralibeni, M., F. Rezai-Sarteshnizi, S. Karimi Dehkordi, A. Moharrery and Mehrban, H. 2020. The Effect of Adding of Protexin Probiotic in the Last Month of Pregnancy on Weight, Hematological and Blood Parameters of Lori Bakhtiyari Ewes. *Research on Animal Production*, 11(29): 39-47. <https://doi.org/10.52547/rap.11.29.39>
- Ejtahed, H.S., J. Mohtadi-Nia, A. Homavouni-Rad, M. Niafar, M. Asghari-Jafarabadi and V. Mofid. 2012. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*, 28: 539-543. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.08.013>
- Hedavati, A., A. Jahanbakhshi and F. Qaderi Rmazy. 2013. *Aquatic Toxicology*, Vol. I. First edition. pp. 70-76.
- Julliard, V. and P. Grimm. 2017. The impact of diet on the hindgut microbiome. *Journal of Equine Veterinary Science*, 52: 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.03.002>
- Khan, A.Z., S. Kumbhar, Y. Liu, M. Hamid, C. Pan, S.A. Nido, F. Parveen and K. Huang. 2018. Dietary supplementation of selenium-enriched probiotics enhances meat quality of broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*) raised under high ambient temperature. *Biological Trace Element Research*, 182: 328-38. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1094-z>
- Khodaei-Motlagh, M., H.A. Ghasemi and A. Salehi Zadeh. 2023. Effect of different levels of a blended supplement including probiotics, prebiotics and enzymes on productive performance, blood metabolites, hormonal profile and antioxidant status of laying hens. *Research on Animal Production*, 13(38): 128-137. <https://doi.org/10.52547/rap.13.38.128>
- Knowles, T.G., J.E. Edwards, K.J. Bazeley, S.N. Brown, A. Butterworth and P.D. Warriss. 2000. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Veterinary Record*, 147(21): 593-598.
- Kullisaar, T., M. Zilmer, M. Mikelsaar, T. Vihalemm, H. Annuk, C. Kairane and A. Kilk. 2002. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 72: 215-224. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00674-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00674-2)
- Kuloglu, M., M. Atmaca, E. Tezcan, B. Ustundag and S. Bulut. 2002. Antioxidant enzyme and malondialdehyde levels in patients with panic disorder. *Neuropsychobiology*, 46(4): 186-189. <https://doi.org/10.1159/000063573>
- LeBlanc, J.G., S. Del Carmen, A. Miyoshi, V. Azevedo, F. Sesma, P. Langella, L. Bermudez-Humaran, L. Watterlot, and G. Perdigon. 2011. Use of superoxide dismutase and catalase producing lactic acid bacteria in TNBS induced Crohn's disease in mice. *Journal of Biotechnology*, 151: 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.11.008>
- Lutgendorff, F., R.M. Nijmeijer, P.A. Sandström, L.M. Trulsson, K.E. Magnusson, H.M. Timmerman, L.P. van Minnen, G.T. Rijkers, H.G. Gooszen, L.M. Akkermans, J.D. Söderholm. 2009. Probiotics

- prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. *PLoS ONE*, 4: e4512. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004512>
21. Mackenthun, E., M. Coenen and I. Vervuert. 2013. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on apparent total tract digestibility of nutrients and fermentation profile in healthy horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97: 115-120. <https://doi.org/10.1111/jpn.12043>
 22. Merrifield, D.L., A. Dimitroglou, A. Foey, S.J. Davies, R.T. Baker, J. Bøgwald, M. Castex and E. Ringø. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302(1-2): 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.02.007>
 23. Mishra, V.; Shah, C.; Mokashe, N.; Chavan, R.; Yadav, H.; Prajapati, J. 2015. Probiotics as potential antioxidants: A systematic review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63, 3615–3626. <https://doi.org/10.1021/xf506326t>
 24. Pompei, A., L. Cordisco, A. Amaretti, S. Zanoni, D. Matteuzzi and M. Rossi. 2007. Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 179-185. <https://doi.org/10.1128/AEM.01763-06>
 25. Savari, A., A. Hedavati and A. Safahieh. 2011. Characterization of blood cells and hematological parameters of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) in some creeks of Persian Gulf. *World Journal of Zoology*, 6: 26-32.
 26. Schoster, A., J.S. Weese and L. Guardabassi. 2014. Probiotic use in horses—what is the evidence for their clinical efficacy? *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(6): 1640-1652. <https://doi.org/10.1111/jvim.12451>
 27. Son, S.H., H.L. Jeon, S.J. Yang, M.H. Sim, Y.J. Kim, N.K. Lee and H.D. Paik. 2018. Probiotic lactic acid bacteria isolated from traditional Korean fermented foods based on β -glucosidase activity. *Food Sciences Biotechnology*, 27: 123-9. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0212-1>
 28. Strompfová, V., M. Marcináková, M. Simonová, Z.L. Gancarcíková, L. Sciranková, J. Koscová, V. Buleca, K. Cobanová and A. Lauková. 2006. *Enterococcus faecium* EK13 – an enterocin A-producing strain with probiotic character and its effect in piglets. *Anaerobe*, 12: 242-248. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2006.09.003>
 29. Swyers, K., A.O. Burk, T.G. Hartsock, E. M. Ungerfeld and J.L. Shelton. 2008. Effects of direct-fed microbial supplementation on digestibility and fermentation end-products in horses fed low- and high-starch concentrates. *Journal of Animal Science*, 86(10): 2596-2608. <https://doi.org/10.2527/jas.2007.0608>
 30. Szajewska, H., M. Kołodziej, D. Gieruszczak-Białek, A. Skórka, M. Ruszczyński and R. Shamir. 2019. Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG for treating acute gastroenteritis in children—a 2019 update. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 49(11): 1376-1384. <https://doi.org/10.1111/apt.13404>
 31. Wang, A.N., X.W. Yi, H.F. Yu, B. Dong and S.Y. Qiao. 2009. Free radical scavenging activity of *Lactobacillus fermentum* in vitro and its antioxidative effect on growing-finishing pigs. *Journal of Applied Microbiology*, 107: 1140-1148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04294.x>
 32. Wang, Y. Y. Wu, Y. Wang, A. Fu, L. Gong, W. Li and Y. Li. 2016. *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 alleviates the oxidative stress of IPEC-1 via modulating Nrf2/Keap1 signaling pathway and decreasing ROS production. *Applied microbiology and biotechnology*, 101: 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8032-4>
 33. Weifen, L., Z. Xiaoping, S. Wenhui, D. Bin, L. Quan, F. Luoqin, Z. Jiajia and Y. Dongyou. 2012. Effects of *Bacillus* preparations on immunity and antioxidant activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(6): 1585-1592. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9652-y>
 34. Wouters, D., N. Bernaert, N. Anno, B. Van Droogenbroeck, M. De Loose, E. Van Bockstaele, L. De Vuyst. 2013. Application and validation of autochthonous lactic acid bacteria starter cultures for controlled leek fermentations and their influence on the antioxidant properties of leek. *International Journal Food Microbiology*, 165: 121-33. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.04.016>
 35. Zevner, A. and E. Boldt. 2006. Effects of a probiotic *Enterococcus faecium* strain supplemented from birth to weaning on diarrhoea patterns and performance of piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90: 25-31. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2005.00615.x>