

Литература. 1. Сюрин В. Н. и др. *Диагностика вирусных болезней животных. Справочник* / В. Н. Сюрин, Р. В. Белоусова, Н. В. Фомина. – М.: Агропромиздат, 1991 – 528с. 2. Белоусова Р. В., Преображенская Э. А., Третьякова И. В. *Ветеринарная вирусология* / Под ред. проф. Р. В. Белоусовой – М.: Колос С, 2007. – 424с. 3. Мяделец О. Д. *Основы частной гистологии*. – М.: Медицинская книга, Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2002 – 374с. 4. McGavin M. Donald, Zachary James F. *Pathologic basis veterinary disease. Fourth edition.* – st. Louis, Missouri, Mosby – Elsevier, 2007 – 1467p. 5. Белоцкий С. М., Авталион Р. Р. *Воспаление. Мобилизация клеток и клинические эффекты*. – М.: Издательство БИНОМ 2008 – 240с. 6. Редакционная статья. *Строение и функция иммунной системы Лекция №1. врожденный неспецифический (естественный) иммунитет. Клеточный иммунитет.* // *Здоровье Украины* – 2008 - №1 – с.1-7. 7. *Аллергология в схемах и таблицах. Справочное руководство* – СПб.: Спец. Лит, 2000 – 715с. 8. Райт А., Бростофор Дж., Мейл Д. *Иммунология. Пер. с англ.* – М.: Мир, 2000 – 592с. 9. А. А. Кудряшов. *Патологоанатомическая диагностика инфекционных болезней собак и кошек.* – Санкт-Петербург: Изд-во ООО «Институт Ветеринарной Биологии», 2004 – 206с.

УДК 961:616.36-002:636.4-053.2

ДИНАМИКА МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА ПОРОСЯТ-СОСУНОВ ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ В ИХ РАЦИОН ПРОБИОТИКА «КЛОСТАТ™ СУХОЙ»

Гласкович А.А., Мехова О.С.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Представленные в статье данные свидетельствуют о том, что изученный пробиотический препарат равномерно заселяет желудочно-кишечный тракт поросят и оказывает стимулирующее влияние на формирование лакто- и бифидофлоры в желудочно-кишечном тракте свиней, угнетает условно-патогенную микрофлору, что приводит к заселению желудочно-кишечного тракта бактериями кишечного-паратифозной группы. Применение «КлоСТАТ™ сухой» в свиноводстве снижает число заболеваний энтеритами криптоспоридиозной этиологии, повышает концентрацию лакто- и бифидобактерий в кишечном тракте поросят, повышает естественную резистентность. Это свидетельствует о нормализации протекания обменных процессов в организме свиней при введении в рацион «КлоСТАТ™ сухой».

The data presented in article testify that studied of the probiotic in regular intervals occupies a gastroenteric path of pig and stimulating impact on formation lakto- bifidoflor in a gastroenteric path of pig makes, oppresses is conditional-pathogenic microflora that leads to settling of a gastroenteric path by bacteria of intestinally-paratyphus group. Application probiotic «CloSTAT™ dry» in pigs reduces number of cryptosporidiosis infection, increased the concentration of lakto- and bifidobacilli within the intestinal tracts of young pigs, natural resistance increase. This testifies to normalization of metabolic processes taking place in pigs organisms with the introduction into their ration of the «CloSTAT dry».

Введение. Нормальная кишечная микрофлора участвует в поддержании колонизационной резистентности слизистой кишечника и играет немаловажную роль в развитии заболеваний, ассоциированных с нарушениями в микробиоценозе кишечника и чрезмерной контаминацией его условно-патогенными бактериями с высокой вирулентностью [2]. Эффективным, безопасным и экономически целесообразным решением этой проблемы является производство и применение натуральных биоактивных препаратов, механизм действия которых направлен на заселение кишечника конкурентоспособными штаммами бактерий-пробионтов, которые осуществляют неспецифический контроль над численностью условно-патогенной микрофлоры путем вытеснения ее из состава кишечного микробиоценоза, устраняют антибиотиковые дисбактериозы, стимулируют иммунитет, улучшают пищеварение, повышают общую резистентность организма [9].

Пробиотические эффекты могут быть вызваны представителями спорообразующих микроорганизмов – *Bacillus*, *Clostridium*, которые своим присутствием способны предотвращать кишечные расстройства порой даже в большей степени, чем традиционные пробиотики на основе бифидо- и лактобактерий. Протеолитические, пектинолитические, липолитические и целлюлозолитические способности бактерий рода *Bacillus*, затрагивая процессы пищеварения, могут приводить к нормализации внутренних процессов и функций макроорганизма – разрушать тромбы и гепарин, токсические продукты и аллергены, уменьшать образование холестериновых мицелл.

Препарат «КлоСТАТ™ сухой» обладает антагонистической активностью в отношении широкого спектра патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и простейших, включая эшерихии, сальмонелл, протеев, стафилококков, клебсиелл, криптоспоридий и других видов.

Микроорганизмы *B.subtilis* предназначены для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний у молодняка животных, для коррекции микробного пейзажа после антибиотикотерапии, а также повышения сохранности свиней и птицы.

Материалы и методы исследований. Целью нашего исследования явилось изучение влияния пробиотика «КлоСТАТ™ сухой» на микробиоценоз желудочно-кишечного тракта поросят-сосунов. В ходе исследований мы определяли в тонком и толстом отделах кишечника количество бифидобактерий, лактобактерий, кишечных палочек, сальмонелл, микроскопических грибов.

При проведении научно-исследовательской работы в опыте было использовано 12 поросят-сосунов от 3- до 10-дневного возраста, разделенных на 3 группы по 4 поросенка (таблица 1). Группы были сформированы по принципу аналогов. Контрольная группа была сформирована из здоровых поросят, а 2-я, 3-я – из поросят-сосунов, спонтанно зараженных криптоспоридиями (диагноз ставили на основании копроскопических исследований).

Для определения бактерий были использованы следующие среды: для лакто- и бифидобактерий – тиогликолевая среда; для определения аэробных бацилл – подложки для определения мезофильных и факультативно анаэробных микроорганизмов, для определения кишечных палочек – подложки для определения бактерий вида *E.coli*, для сальмонелл – подложки для определения энтеробактерий и бактерий рода *Salmonella*, для микроскопических грибов – подложки для определения дрожжей и плесневых грибов.

Таблица 1 – Схема опыта

Группа	Количество голов	Инвазия криптоспоридиоза	Особенности кормления
1 (контроль)	4	–	Основной рацион (ОР)
2	4	+	ОР + «КлоСТАТ TM сухой» (1,0 г/кг)
3	4	+	ОР

Исследование проводили в несколько этапов. **Этап 1.** Проводили последовательное разведение фекалий поросят методом последовательных (серийных) разведений. **Этап 2.** Проводили посевы на подложки из подготовленного образца продукта (его соответствующего разведения). В термостате подложки располагали в горизонтальном положении прозрачной пленкой вверх. Подложки для определения мезофильных аэробных микроорганизмов, *E.coli*, *Salmonella* инкубировали в течение 24±3 ч при температуре 36±1°C, а для подложек с целью определения дрожжевых и плесневых грибов – в течение 48±3 ч, при температуре 24±1 °C. После инкубирования подсчитывали все образовавшиеся колонии. Полученные результаты округляли по ГОСТ 26670 и выражали в КОЕ/г (см³). **Этап 3.** Определение количества лакто- и бифидобактерий на тиогликолевой полужидкой среде с содержанием 0,2 % агара. При выделении лакто- и бифидобактерий применяли метод Коха.

Результаты исследований. Анализируя состав микрофлоры кишечника свиней в норме, установили, что нормальное течение биохимических процессов в кишечнике осуществляется при балансе микробного пейзажа.

В таблице 2 представлены результаты динамики содержания бактерий в кишечнике поросят-сосунов при введении в рацион пробиотика «КлоСТАТTM сухой».

Таблица 2 – Динамика микробиоценоза кишечника поросят-сосунов при введении в рацион пробиотика «КлоСТАТTM сухой»

Биологически активные препараты	Группы		
	Контрольная	Больные	Опытная
15 дней			
Бифидо- и лактобактерии	6,52x10 ⁸ ±0,592x10 ⁸	4,35x10 ⁹ ±0,788x10 ⁹ p _{к-2} <0,001	5,77x10 ⁶ ±3,488x10 ⁶ p _{к-3} <0,001; p ₂₋₃ <0,001
<i>E.coli</i>	5,23x10 ⁸ ±0,173x10 ⁸	4,55x10 ⁷ ±1,639x10 ⁷ p _{к-2} <0,01	1,19x10 ⁹ ±0,03x10 ⁹ p _{к-3} <0,01; p ₂₋₃ <0,01
<i>Salmonella/Enterobacteriaceae</i>	2,52x10 ⁶ ±0,958x10 ⁶	2,94x10 ⁵ ±0,58x10 ⁵ p _{к-2} >0,05	4,07x10 ⁸ ±0,994x10 ⁸ p _{к-3} <0,05; p ₂₋₃ <0,01
Дрожжи и плесневые грибы	3,8x10 ⁶ ±1,501x10 ⁶	0,4x10 ⁶ ±0,4x10 ⁶ p _{к-2} >0,05	1,13x10 ⁸ ±0,321x10 ⁸ p _{к-3} <0,05; p ₂₋₃ <0,05
30 дней			
Бифидо- и лактобактерии	6,28x10 ⁸ ±1,371x10 ⁸	4,86x10 ⁹ ±0,31x10 ⁹ p _{к-2} <0,001	8,92x10 ⁷ ±6,36x10 ⁷ p _{к-3} <0,05; p ₂₋₃ <0,001
<i>E.coli</i>	7,24x10 ⁸ ±0,41x10 ⁸	6,1x10 ⁸ ±0,284x10 ⁸ p _{к-2} <0,05	1,29x10 ⁹ ±0,095x10 ⁹ p _{к-3} <0,01; p ₂₋₃ <0,05
<i>Salmonella/Enterobacteriaceae</i>	1,92x10 ⁷ ±0,363x10 ⁷	1,67x10 ⁵ ±1,667x10 ⁵ p _{к-2} <0,01	3,5x10 ⁸ ±0,889x10 ⁸ p _{к-3} <0,05; p ₂₋₃ <0,05
Дрожжи и плесневые грибы	3,68x10 ⁸ ±0,671x10 ⁸	6,0x10 ⁶ ±0,306x10 ⁶ p _{к-2} <0,01	1,52x10 ⁸ ±0,307x10 ⁸ p _{к-3} <0,05; p ₂₋₃ <0,01

Примечание: p_{к-2} – показатели у контрольной группы животных по сравнению с показателями у поросят 1 группы, p_{к-3} – контрольной группы по сравнению с 32-й группой, p₂₋₃ – 2-й группы поросят - с 3-й.

У поросят 1-й контрольной группы на 28 день исследования отмечалось незначительное уменьшение количества лакто- и бифидобактерий до 6,28x10⁸±1,371x10⁸ по сравнению с 15-м днем исследования (6,52x10⁸±0,592x10⁸). У поросят, получавших кормовой пробиотик «КлоСТАТTM сухой» (2 группа), наблюдалась обратная тенденция, и количество лакто- и бифидобактерий возросло с 4,35x10⁹±0,788x10⁹ до 4,86x10⁹±0,31x10⁹ к 28-му дню опыта. На 15 день у больных животных 3-й группы количество полезных бактерий было самым низким (5,77x10⁶±3,488x10⁶) по сравнению с контрольной и 2-й группами. К 28-му дню, в связи со снижением интенсивности инвазии криптоспоридиоза, количество лакто- и бифидобактерий в этой группе увеличилось до 8,92x10⁷±6,36x10⁷ КОЕ/г (см³), но было значительно меньше, чем у поросят 2-й и 1-й групп. У дефицитных по лакто- и бифидофлоре животных снижается способность к детоксикации токсинов, нарушаются процессы развития иммунокомпетентных органов и регуляции минерального, ферментного, гормонального и витаминного обменов.

Проведенные исследования свидетельствуют, что при применении пробиотика «КлоСТАТTM сухой» незначительно увеличивается количество грамотрицательных бактерий *E.coli*, отдельные штаммы которых при неблагоприятных условиях могут являться возбудителями тяжелых заболеваний органов пищеварения и дыхания. Во 2-й группе с 15-го по 28-й дни исследования выявили увеличение концентрации эшерихий в фекалиях поросят с 4,55x10⁷±1,639x10⁷ до 6,1x10⁸±0,284x10⁸, у животных 1-й контрольной группы было отмечено увеличение количества бактерий с 5,23x10⁸±0,173x10⁸ до 7,24x10⁸±0,41x10⁸. У больных поросят 3-й группы количество условно-патогенных микроорганизмов с 15-го по 28-й день опыта незначительно повысилось с 1,19x10⁹±0,03x10⁹ до 1,29x10⁹±0,095x10⁹. Концентрация микроорганизмов значительно превышала показатели поросят в 1-й и 2-й группах (4,55x10⁷±1,639x10⁷). Молочная кислота, вырабатываемая этими бактериями, понижает pH среды до 4-4,5 и тем самым предотвращает размножение гнилостной микрофлоры и подавляет развитие патологических изменений в желудочно-кишечном тракте.

Количество сальмонелл у поросят 1-й группы с 15-го по 28-й дни исследования возросло с $2,52 \times 10^6 \pm 0,958 \times 10^6$ до $1,92 \times 10^7 \pm 0,363 \times 10^7$ КОЕ/г, а во 2-й группе к 28-у дню снизилось с $2,94 \times 10^5 \pm 0,58 \times 10^5$ до $1,67 \times 10^5 \pm 1,667 \times 10^5$. Под влиянием препарата ограничивается размножение в кишечнике поросят потенциальных патогенов (сальмонелл). В пораженном криптоспоридиями желудочно-кишечном тракте поросят количество сальмонелл на 15-й день исследования составило $4,07 \times 10^8 \pm 0,994 \times 10^8$, что достоверно больше ($p_{к-з} < 0,05$, $p_{2-3} < 0,01$), чем в контрольной и во 2-й группах. К 28-у дню разница между показателями поросят 2-й и 3-й групп была значительная, т.е. количество колониеобразующих единиц у больных поросят 3-й группы достигло $3,5 \times 10^8 \pm 0,889 \times 10^8$, что было достоверно выше, чем в 1-й контрольной ($p_{к-з} < 0,05$) и во 2-й ($p_{2-3} < 0,05$) группах.

Из данных таблицы 25 видно, что концентрация микромицет в фекалиях у поросят, получавших пробиотик, значительно ниже, чем у животных контрольной и 3-й групп (больных криптоспоридиозом). У молодняка 2-й группы количество дрожжей и плесневых грибов увеличилось незначительно - с $0,4 \times 10^6 \pm 0,4 \times 10^6$ (на 15 день) до $6,0 \times 10^6 \pm 0,306 \times 10^6$ (в 28 дней). В те же сроки исследования у животных контрольной группы количество микромицет возрастало с $3,8 \times 10^6 \pm 1,501 \times 10^6$ до $3,68 \times 10^8 \pm 0,671 \times 10^8$. У поросят 3-й группы количество дрожжей и грибов повысилось к концу опыта с $1,13 \times 10^8 \pm 0,321 \times 10^8$ до $1,52 \times 10^8 \pm 0,307 \times 10^8$, что достоверно ($p_{к-з} < 0,05$, $p_{2-3} < 0,01$) превышало показатели контрольной и 2-й групп.

При заболевании криптоспориозом в значительной степени нарушаются обменные процессы в организме больных животных, развиваются обширные воспалительные процессы со стороны желудочно-кишечного тракта, что, в свою очередь, не могло не повлиять на состав микрофлоры кишечника.

Отмечалось уменьшение содержания нормальной микрофлоры (бифидобактерии, лактобактерии) с увеличением количества эшерихий, микромицет, а также аэробных бацилл. У животных опытной группы по сравнению с поросятами контрольной отмечалось уменьшение содержания нормальной микрофлоры (бифидобактерии, лактобактерии) с увеличением количества эшерихий, микромицет, а также аэробных бацилл.

Заключение. Использование кормовой пробиотической добавки «КлоСТАТ™ сухой», способствует заселению кишечника конкурентоспособными штаммами *B.subtilis*, которые осуществляют неспецифический контроль над численностью условно-патогенной микрофлоры путем вытеснения ее из состава кишечного микробиоценоза. Пробиотический кормовой препарат «КлоСТАТ™ сухой» способствует восстановлению и стимуляции колонизационной сопротивляемости кишечника, детоксикационной и синтетической способности нормальной микрофлоры кишечника и пищеварительной функций желудочно-кишечного тракта поросят.

Нарушение состава кишечной микрофлоры может способствовать повреждению энтероцитов и нарушению физиологических процессов в кишечнике, привести к повышению кишечной проницаемости для макромолекул, менять моторику, снижать защитные свойства слизистого барьера, создавая условия для развития патогенных микроорганизмов [10, 17]. При прогрессировании местных воспалительных реакций, нарушении проницаемости слизистой оболочки для бактерий, вирусов и их токсинов избыточный рост бактерий в тонкой кишке ведет к явлениям эндогенной интоксикации, повышает нагрузку на печень и почки, а также ухудшает деятельность ЦНС, повышает нагрузку на иммунную систему организма [18].

Пробиотик «КлоСТАТ™ сухой» обладает многофакторным действием: снижает экстенсивность криптоспориозной инвазии на 6,16%, снижает число заболеваний энтеритами за счет заселения желудочно-кишечного тракта *Bacillus subtilis*, что связано с нарушением обмена веществ, устраняет негативный эффект антипитательных факторов, улучшает переваривание и всасывание в тонком отделе кишечника питательных элементов корма и тем самым повышает интенсивность роста поросят-сосунов на 11,4% и обеспечивает сохранность поголовья на уровне 96,7%.

Литература: 1. Куваева, И.Б. Обмен веществ организма и кишечная микрофлора. – М.: Медицина, 1976. – 1248 с. 2. Куваева, И.Б. О синтезе кишечной флорой некоторых витаминов группы В / И.Б. Куваева, Т.В. Воробьева. – Вопросы питания, 1965. - №6. – С.62-67. 3. Перетц, Л.Г. Значение нормальной микрофлоры для организма человека / Л.Г. Перетц. – М.: Медгиз, 1955. – 250 с.; 4. Петровская, В.Г. Иммунология острого лучевого поражения / В.Г. Петровская. – Журнал «Микробиология», 1974. - №6. – С.94. 5. Овод, А.С. Направленное формирование бактериоза кишечника / А.С. Овод // Ветеринария. – 2003. – №2. – С.23-26. 6. Пинегин, Б.В. Дисбактериозы кишечника / Б.В. Пинегин, В.Н. Мальцев, В.М. Коршунов. – М.: Медицина, 1981. – 144 с. 7. Новожилова, И.В. Влияние пробиотиков на показатели естественной резистентности и продуктивности молодняка животных: дис. маг. биол. наук: 1-31.80.01 / И.В. Новожилова. – Минск, 2008. – 66 л. 8. Пилуй, Г.Л. Микробиоценоз пищеварительного тракта новорожденных в норме и при кишечных расстройствах / Г.Л. Пилуй, Г.Л. Дворкин // «Ветеринарная наука – производству», материалы межведомственного сборника. – Вып. 24. – 1986. – С.40-44. 9. Пробиотик Лактоамиловирин стимулирует рост цыплят / И. Егоров [и др.]. // Птицеводство. – 2004. - №8. – С.32-33. 10. Калюжный, С.И. Микробиологическое, иммунологическое и биохимическое обоснование комплексной терапии при криптоспориозе поросят / автореф. дис. ... докт. вет. наук: 03.02.11 // С.И. Калюжный - Саратов, 2011. - С. 22. 11. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: Справочное издание / И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с. 12. Калюжный С.И. Бактерицидная активность сыворотки крови поросят, больных криптоспориозным заболеванием и методы ее коррекции / С.И. Калюжный // Иммунологические, технологические, экономические факторы повышения производства продукции сельского хозяйства. – Уфа. – 2002. – С. 123-126. 13. Калюжный С.И. Фагоцитарная активность лейкоцитов сыворотки крови поросят, больных криптоспориозным заболеванием и методы ее коррекции / С.И. Калюжный // Иммунологические, технологические, экономические факторы повышения производства продукции сельского хозяйства. – Уфа. – 2002. – С. 126-129. 14. Калюжный С.И. Реакция эозинофилов при криптоспориозном заболевании поросят / С.И. Калюжный, С.В. Ларионов, Р.Т. Маннапова // Современные иммуноморфологические проблемы развития животных при ассоциативных инфекционно-инвазионных заболеваниях и использование для их профилактики биологически активных продуктов пчеловодства: Мат. научно-практической конференции. – Москва. – 2001. – С. 258-259. 15. Васильева, В.А. [Гематологические исследования при криптоспориозе поросят до и после лечения / В.А. Васильева // Мат. докл. науч. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2004. – С.98-99. 16. Пилуй, Г.Л. Микробиоценоз пищеварительного тракта новорожденных в норме и при кишечных расстройствах / Г.Л. Пилуй, Г.Л. Дворкин // «Ветеринарная наука – производству», материалы межведомственного сборника. – Вып. 24. – 1986. – С.40-44. 17. Курилов, Н.В. Физиология и биохимия пищеварения жвачных / Н.В. Курилов, А.П. Кроткова // Москва. – 1971. – 431с.