

ФОРМИРОВАНИЕ КИШЕЧНОГО НОРМОБИОЦЕНОЗА И ПРОФИЛАКТИКА ДИСБАКТЕРИОЗОВ У ТЕЛЯТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕ- И ПРОБИОТИКОВ

Борознов С.Л., Карпуть И.М., Сандул А.В.

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

При целенаправленном формировании кишечного нормобиоза у телят с помощью пре- и пробиотиков наилучший эффект оказывает совместное применение пробиотика «Бифидофлорин жидкий» с пребиотиком «Биофон АИЛ»

For aimed formation of the intestine normobiocenosis in calves with prebiotics and probiotics the simultaneous use of the probiotic Bifidoflorin liquid and the prebiotic Biofon AIL has proved to be the most efficacious

Введение. Микробиоценоз кишечника – очень важная система организма, выполняющая или регулирующая многочисленные его функции по поддержанию гомеостаза.

Заселение кишечника животных микрофлорой начинается с момента рождения и протекает как последовательное расселение и размножение до необходимых пределов в различных отделах пищеварительного тракта. При заселении происходит и сукцессия, т. е. замещение одного сообщества другим в результате изменения места обитания из-за нарушения сообществом физической среды и различных взаимоотношений внутри него. Сукцессия завершается формированием сообществ различных популяций микроорганизмов с соблюдением определенной иерархии [4].

Наиболее значимые и доминирующие представители нормофлоры - бифидобактерии, обитающие в пристеночной слизи и просвете толстого кишечника у молодняка и взрослых животных.

В состав облигатной микрофлоры входят также лактобактерии и молочнокислые энтерококки, заселяющие различные отделы гастроинтестинального тракта: ротовую полость, желудок, тонкий кишечник, наивысшая плотность их популяций достигается в толстом кишечнике.

Эшерихии (кишечная палочка) с выраженной ферментативной активностью, отсутствием факторов вирулентности, характерных для патогенных штаммов, также можно отнести к постоянным нормальным обитателям кишечника. Эшерихии, в отличие от тотального расселения лактобацилл, обитают в определенной экологической нише – в толстом кишечнике и дистальных отделах тонкой кишки.

К факультативной микрофлоре относят таких представителей, как эшерихии с пониженной ферментативной активностью и лактозонегативные, энтерококки, анаэробные сульфитредуцирующие кластридии, гнилостные бациллы и стафилококки с гемолитической активностью, цитратредуцирующие условно-патогенные энтеробактерии, грибы, протей.

Физиологические функции нормальной микрофлоры кишечника весьма разнообразны, но одной из них является обеспечение колонизационной резистентности – совокупности механизмов, включающих:

формирование биопленки из клеточного муцина и бактериального полисахарида, заключающих микроколонию бифидобактерий;

антагонистическую активность бифидо-, лактобактерий, эшерихий по отношению к условно-патогенным, гнилостным бактериям, возбудителям за счет продуцируемых органических кислот, перекиси водорода, бактерицинов, лизоцима.

Перечисленные факторы обеспечивают конкурентоспособность облигатной микрофлоре в борьбе за место обитания – экологическую нишу. В кишечнике нормофлора выполняет роль первичного неспецифического барьера, после прорыва которого регулируется включение других неспецифических, а затем и специфических механизмов защиты [1, 3, 4, 5].

Следует отметить, что становление кишечного нормобиоза, обеспечивающего колонизационную резистентность к возбудителям желудочно-кишечных заболеваний, у телят в условиях хозяйств промышленного типа крайне нестабильно и относительно. Этот процесс зависит от многих факторов, например, от гигиены мест содержания маточного поголовья и новорожденных, гигиены их кормления, от широты распространения гинекологической патологии в хозяйстве, при которой микрофлора родовых путей маток изменяется в сторону преобладания патогенной флоры. Все это свидетельствует о необходимости использования экзогенных компонентов микробиоценоза в качестве биопрепаратов для профилактики заболеваний органов пищеварения.

Препараты из живых бактерий-антагонистов, представляющих нормальную микрофлору кишечника, называют пробиотиками. Они представляют собой экологически безопасные препараты для профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта животных, особенно молодняка. Их использование оказывает многообразное действие на микрофлору кишечника, иммунную, гормональную и ферментативную системы животных. Другой направленностью действия обладают пребиотики – неперевариваемые компоненты корма, которые способствуют размножению, селективному увеличению популяции собственных полезных микробов. К ним относят микробные полисахариды, являющиеся пищевым субстратом анаэробной микрофлоры кишечника [2, 6, 7, 8, 9].

Цель исследований: оценить эффективность пре- и пробиотиков и различных схем их применения для целенаправленного формирования бактериоценоза желудочно-кишечного тракта телят.

Материал и методы. Для решения поставленной цели мы изучали количественные и качественные показатели микробиологического статуса кишечника молодняка крупного рогатого скота с учетом возрастной динамики одних и тех же животных с момента рождения до 21 дня. Для нас важна была сравнительная характеристика процесса заселения желудочно-кишечного тракта в зависимости от клинического состояния мак-

роорганизма, а также под влиянием пре- и пробиотиков.

Для постановки эксперимента нами было создано 7 групп телят. Клинически здоровые и нормально развивающиеся животные составили группу 1. Телята с диарейным синдромом (группа 2) препаратов не получали, применялись обработки по принятой в хозяйстве схеме. Животные группы 3 ежедневно получали пробиотик «Бифидофлорин жидкий» в дозе 20 мл в течение 20 дней. Телятам группы 4 ежедневно задавали пребиотик «Биофон» с молозивом или молоком в дозе 20 мл в течение 20 дней, телятам опытной группы 5 ежедневно применяли пробиотик «Биофон-АИЛ» в дозе 20 мл в течение 20 дней. Животные группы 6 получали пробиотик «Бифидофлорин жидкий» одновременно с пребиотиком «Биофон», а телятам группы 7 задавали пробиотик «Бифидофлорин жидкий» совместно с пребиотиком «Биофон АИЛ».

Пробы фекалий от телят отбирали непосредственно из прямой кишки во время дефекации в стерильную посуду. Количество жизнеспособных клеток бактерий в 1 г содержимого кишечника (число колониеобразующих единиц - КОЕ) устанавливали методом предельной разведений при высеве на соответствующие агаризованные питательные среды. Культивирование анаэробной микрофлоры проводили в микроанаэроstate при +37°C в течение 48-72 часов; остальной - при +37°C в течение 18-24-48 часов. Количество бактерий в 1 г фекалий определяли по числу выросших колоний с пересчетом на количество посеянного материала и степень его разведения. Ориентировочную идентификацию бифидо- и лактобактерий проводили микроскопическим методом (окраска мазка по Грамму), который позволяет оценить морфологию клеток. Идентификацию кишечной палочки и остальных бактерий проводили по морфолого-культуральным и биохимическим свойствам.

Результаты исследований. Данные таблиц 1-3 позволяют отметить, что количественный и качественный состав микрофлоры у клинически здоровых и нормально развивающихся животных (1 группа) в течение всего опытного периода (21 день) значительно отличался от такового у телят с диарейным синдромом и отставших в росте и развитии (2 группа). В частности, у последних в однодневном возрасте микрофлора кишечника была представлена в основном эшерихиями ($6,38 \pm 0,28 \lg \text{ КОЕ/г}$). Кроме того, в значительном количестве выделены кокковые формы ($4,25 \pm 0,11 \lg \text{ КОЕ/г}$), а также обнаруживались протей ($3,25 \pm 0,21 \lg \text{ КОЕ/г}$) и клостридии ($1,15 \pm 0,18 \lg \text{ КОЕ/г}$). Доминирование эшерихий в бактериоценозе кишечника больных телят наблюдалось на протяжении всего эксперимента. Такие облигатные микроорганизмы, как бифидо- и лактобактерии, удалось выявить в содержимом кишечника лишь к 4-7-дневному возрасту телят. В этот период содержание бифидобактерий на 3-5 логарифмов уступало эшерихиям, а количество лактобактерий – на 7-8 логарифмов. Одновременно выявляли качественные изменения эшерихий: увеличилось количество кишечных палочек со сниженной ферментативной активностью, появились гемолизирующие представители. Таким образом, количественные и качественные показатели бактериоценоза кишечника у телят 2 группы указывают на состояние дисбактериоза. По характеристике микробиоценоза кишечника, согласно классификации Г.Ф. Бовкун и др. [4], дисбактериоз у этих телят протекает в функциональной форме, которая сопровождается простой диспепсией или в деструктивной с эндотоксикозом, при которой возникает антенатальная гипотрофия с диареей, простая диспепсия с эксикозом, энтероколит, катаральный гастроэнтерит. На протяжении всего эксперимента количество нормофлоры у больных животных значительно уступало таковому у клинически здоровых и у телят, которым применяли препараты для формирования кишечного нормобиоза ($P < 0,01$, $P < 0,001$). При этом содержание бифидофлоры особенно снизилось к 10-14-му дню, что, по-видимому, связано с периодом второго возрастного иммунодефицита.

Таблица 1 – Возрастная динамика количества бифидобактерий в фекалиях телят, КОЕ/г (десятичные логарифмы)

Группа животных	Возраст животных, дни					
	1	5	7	10	14	21
1	$2,25 \pm 0,20$	$6,80 \pm 0,24$	$8,19 \pm 0,21$	$8,15 \pm 0,18$	$7,75 \pm 0,10$	$8,72 \pm 0,17$
2	0	$3,38 \pm 0,31$	$6,05 \pm 0,27$	$5,50 \pm 0,26$	$5,24 \pm 0,17$	$4,62 \pm 0,28$
3	$3,75 \pm 0,45$	$7,70 \pm 0,20$	$8,50 \pm 0,20$	$8,80 \pm 0,10$	$8,57 \pm 0,26$	$9,45 \pm 0,27$
4	$3,0 \pm 0,10$	$8,0 \pm 0,10$	$9,1 \pm 0,28$	$8,9 \pm 0,26$	$9,2 \pm 0,19$	$9,62 \pm 0,13$
5	$3,25 \pm 0,19$	$8,20 \pm 0,13$	$9,4 \pm 0,30$	$9,25 \pm 0,26$	$9,38 \pm 0,20$	$9,84 \pm 0,20$
6	$3,17 \pm 0,18$	$8,90 \pm 0,50$	$10,2 \pm 0,42$	$9,9 \pm 0,10$	$10,0 \pm 0,20$	$10,3 \pm 0,18$
7	$3,08 \pm 0,31$	$9,70 \pm 0,10$	$10,2 \pm 0,30$	$10,6 \pm 0,20$	$10,3 \pm 0,30$	$10,6 \pm 0,17$

У клинически здоровых телят процесс заселения желудочно-кишечного тракта бифидо- и лактофлорой происходил более активно. Однако на 10-14-й дни происходило некоторое снижение количества бифидо-лактофлоры, то есть нормобиоз кишечника этих животных характеризовался нестабильностью. Это связано с тем, что заселение микрофлорой желудочно-кишечного тракта теленка происходит не только от микрофлоры, полученной от матери, но и в результате контакта сразу после рождения с так называемой хлевной микрофлорой, представленной ассоциацией грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, обитающих в кишечнике и респираторном тракте взрослых животных. Преобладают, как правило, энтеробактерии, кокковая и анаэробная микрофлора. Когда колонизационная резистентность кишечника телят крайне зависима от многих факторов и нестабильна, возникает опасность развития дисбактериоза, сопровождающегося желудочно-кишечными расстройствами.

Таблица 2 - Возрастная динамика количества лактобактерий в фекалиях телят, lg КОЕ/г

Группа животных	Возраст животных, дни					
	1	5	7	10	14	21
1	3,65± 0,40	5,90± 0,11	6,75± 0,24	8,00± 0,20	7,25± 0,22	8,24± 0,24
2	0	1,25± 0,20	1,85± 0,26	2,25± 0,15	3,54± 0,17	3,25± 0,28
3	3,45± 0,25	6,32± 0,26	7,95± 0,19	8,10± 0,19	8,37± 0,18	9,05± 0,24
4	3,70± 0,10	7,20± 0,18	8,25± 0,26	8,50± 0,25	8,70± 0,13	9,00± 0,19
5	3,85± 0,19	7,78± 0,15	8,6± 0,28	9,05± 0,19	8,90± 0,20	9,10± 0,20
6	3,80± 0,28	8,20± 0,17	9,20± 0,22	9,30± 0,10	9,80± 0,18	10,0± 0,20
7	4,07± 0,21	8,90± 0,20	9,50± 0,20	10,2± 0,24	10,1± 0,26	10,3± 0,27

Таблица 3 - Возрастная динамика количества эшерихий в фекалиях телят, lg КОЕ/г

Группа животных	Возраст животных, дни					
	1	5	7	10	14	21
1	1,65± 0,24	4,2± 0,21	5,75± 0,26	6,25± 0,10	6,8± 0,12	6,64± 0,21
2	6,38± 0,28	8,25± 0,27	9,40± 0,15	9,65± 0,25	9,25± 0,19	9,00± 0,18
3	1,45± 0,15	4,65± 0,28	6,35± 0,15	6,17± 0,19	6,57± 0,28	6,65± 0,17
4	1,40± 0,18	4,8± 0,19	5,15± 0,10	6,50± 0,15	6,60± 0,15	6,50± 0,17
5	1,25± 0,17	4,78± 0,10	5,26± 0,18	6,25± 0,19	6,85± 0,19	6,80± 0,10
6	1,58± 0,18	4,40± 0,17	5,60± 0,22	6,30± 0,10	6,68± 0,19	7,0± 0,10
7	1,17± 0,17	4,60± 0,26	5,50± 0,27	6,34± 0,22	7,10± 0,18	6,75± 0,17

Анализируя микробиологические показатели фекалий у телят, которым применяли специфические препараты для своевременного и правильного заселения кишечника микрофлорой, можно отметить, что каждая из схем применения препаратов оказала эффект. Доминирующее положение в кишечном бактериоценозе имела анаэробная нормофлора (бифидо- и лактофлора), причем процесс заселения протекал более активно и стабильно, чем у клинически здоровых телят, которым не применяли препараты. Содержание кишечной палочки соответствовало норме, атипичные эшерихии не выделялись. Весьма важно, что у животных, получавших пре- и пробиотики, в течение всего периода наблюдений не обнаруживались микрококки, протеи и клостридии. Относительно протеев и клостридий ряд исследователей считают, что они являются представителями нормальной микрофлоры. Однако, когда их численность выше 10^2 и 10^3 клеток в 1 г содержимого (соответственно 2 и 3 lg КОЕ/г), эти группы микроорганизмов характеризуют состояние патологии желудочно-кишечного тракта, причем на самых ранних этапах, и вероятность возникновения гастроэнтерита резко возрастает.

Сравнивая эффективность про- и пребиотиков (3,4,5 группы), отметим, что более интенсивно заселение анаэробной грамположительной флорой происходило под влиянием пребиотиков. Применение препарата «Бифидофлорин жидкий» также оказало положительное действие в процессе формирования кишечного нормобиоза, однако несколько слабее, что отразилось на показателях в период 2-го возрастного иммунодефицита. Так, на 14-й день жизни содержание бифидобактерий в фекалиях у телят 3 группы было $8,57 \pm 0,26$ lg КОЕ/г, тогда как у животных 4 и 5 группы - $9,2 \pm 0,19$ и $9,38 \pm 0,20$ lg КОЕ/г, лактофлоры - $8,37 \pm 0,18$ lg КОЕ/г против $8,70 \pm 0,13$ и $8,90 \pm 0,20$ lg КОЕ/г соответственно ($P_{3-4} < 0,05$, $P_{3-5} < 0,05$).

Из двух пребиотиков – «Биофон» и «Биофон АИЛ» - большей активностью обладал последний.

Динамика показателей микробного статуса кишечника телят групп 3-7 показала, что наилучшего эффекта в целенаправленном становлении кишечного нормобиоза мы добились при совместном применении пре- и пробиотика. Комбинация пробиотического препарата «Бифидофлорин жидкий» с пребиотическим «Биофон АИЛ» (7 группа) оказалась наиболее оптимальной и характеризовалась самыми высокими количественными показателями бифидобактерий и лактофлоры: к концу опыта - $10,6 \pm 0,17$ lg КОЕ/г и $10,3 \pm 0,27$ lg КОЕ/г соответственно.

Заключение. Вышеизложенные результаты и их анализ позволяют сформулировать следующие выводы: Применение предлагаемых пре- и пробиотиков способствует более раннему и активному заселению кишечника облигатной анаэробной грамположительной флорой (бифидо- и лактобактерии) с доминирующим положением последних по отношению к грамотрицательной неспорообразующей факультативно анаэробной флоре (эшерихии).

В период второго возрастного иммунодефицита препараты оказали коррегирующий эффект, обеспечив стабильность количественных показателей нормофлоры, в то время как у животных без их применения в эти сроки происходило снижение содержания бифидо- и лактобактерий с одновременным нарастанием эшерихий.

Наилучший эффект при целенаправленном становлении кишечного нормобиоза у телят оказывает применение пробиотика «Бифидофлорин жидкий» с пребиотиком «Биофон АИЛ» в комбинации.

Литература. 1. Красноголовец, В.Н. Дисбактериоз кишечника / В.Н. Красноголовец. - М.: Медицина. 1989. - 208 с. 2. Кондрахин, И.П. Диспепсия новорожденных телят – успехи и проблемы / И.П. Кондрахин // Ветеринария. – 2003. - №1. – С. 39-43. 3. Нормальная микрофлора животных и ее коррекция пробиотиками / М.А. Сидоров [и др.] // Ветеринария. – 2000. - №11. – С. 17-21. 4. Нормобиоценоз и дисбактериоз молодняка / Г.Ф. Бовкун [и др.] // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2008. - №3 – С. 12-17. 5. Пивняк, И.Г. Микробиология пищеварения жвачных / И.Г. Пивняк, Б.В. Тараканов. – Москва. 1982. – С. 231-233. 6. Сидоров, М.А. Основы профилактики желудочно-кишечных заболеваний новорожденных животных / М.А. Сидоров, В.В. Субботин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2008. - №3 – С. 8-12. 7. Тараканов, Б.В. Использование микробных препаратов и продуктов микробиологического синтеза в животноводстве / Б.В. Тараканов. – М.: 1987. – 48 с. 8. Тараканов, Б.В. Новые биопрепараты в ветеринарии / Б.В. Тараканов, Т.А. Николочева // Ветеринария – 2000. - № 7. – С. 45-50. 9. Kumprecht, I. The effect of mannan-oligosaccharides and *Enterococcus faecium* M-74 bacteria in diets with different protein levels on broiler performance / I. Kumprecht., P. Zobac // Czech. J. anim. Sc. – 1999. – Vol. 44, №2. – P. 73-80.

УДК 619:616.98:579 843 95.615.371.636.4

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ПОРОСЯТ, ПРИВИТЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ

Вербицкий А.А., Гвоздев С.Н.

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

Статья включает данные о поствакцинальном иммунитете после использования экспериментальной инактивированной вакцины против пастереллеза свиней в различных дозах.

The article contains the data on post vaccination immunity after the use of the experimental batch of killed vaccine against porcine pasteurellosis according to various doses.

Введение. Удовлетворение потребности населения продуктами животного происхождения, а промышленности сырьем, возможно лишь в случае интенсивного ведения животноводства. Свиноводство является одной из наиболее рентабельных отраслей животноводства в Республике Беларусь, где преобладают крупные свиноводческие комплексы с оборотом стада в 24 тыс. и 108 тыс. голов в год. Такое крупное скопление животных на ограниченной территории ведет к риску возникновения заболеваний, которые при этом наносят значительный экономический ущерб. Ведущее место среди заболеваний отводится болезням инфекционной этиологии, среди которых, уступая лишь колибактериозу и сальмонеллезу, значительная роль отводится пастереллезу свиней.

Пастереллез относится к числу наиболее широко распространенных инфекционных заболеваний животных, регистрируемых во многих странах мира. Экономический ущерб, наносимый этим заболеванием, складывается из потерь от падежа, вынужденного убоя больных животных и затрат на проведение профилактических и оздоровительных мероприятий [6].

В семейство, к которому относится возбудитель, входят три рода. Род *Pasteurella* включает 15 видов, два из которых: *P. multocida* и *P. haemolytica* являются возбудителями пастереллезов животных. У свиней ведущее место в этиологии развития пастереллеза отводится *P. multocida* сероваров А, В, D (по капсульному антигену).

В Беларуси пастереллез был впервые выделен в 1912 году в Беловежской пуще от диких кабанов. В свиноводческих хозяйствах впервые выделили пастереллез в 1945 году [5]. При этом заболело одно животное. С 1950 года в Республике Беларусь число выявленных неблагополучных пунктов по пастереллезу свиней составило 56. И с этого года наблюдается резкое увеличение количества случаев заболевания животных. В настоящее время данное заболевание занимает третье место среди болезней животных инфекционной этиологии, регистрируемых в Республике Беларусь.

Одним из основных звеньев в системе мер борьбы с пастереллезом свиней является иммунопрофилактика [1,2,3,4]. В настоящее время для борьбы с данным заболеванием на территории нашего государства применяются большое количество живых и инактивированных вакцин, обладающих своими достоинствами и недостатками. Используемые в Республике Беларусь вакцины либо поливалентны, что не всегда нужно производству, либо моновалентны, но иностранного производства, а соответственно дороже отечественных аналогов, либо не содержат полного набора антигенов в своем составе. Кроме того, в настоящее время все западные производители в производстве инактивированных вакцин стремятся использовать адьюванты зарекомендовавших себя производителей. К таким производителям относится французская фирма Seppic, известная производством адьювантов.

Разработка отечественной вакцины против пастереллеза свиней с использованием адьювантов фирмы Seppic на данном этапе развития свиноводческой отрасли в Республике Беларусь позволит получить высококачественный препарат, который в свою очередь позволит снизить затраты на проведение профилактических мероприятий, направленных против данного заболевания, за счет снижения себестоимости вакцины.

Цель исследований – изучение иммунной активности опытной серии инактивированной вакцины против пастереллеза свиней.