

УДК 619:616.99:636.57

ПАЗАРИТОЦЕНОЗЫ ПЛОТЯДНЫХ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА

Субботин А.М., Сандул А.В., Краковский И.В., Субботина И.А.

УО «Витебская государственная ордена «Знак Почета» академия ветеринарной медицины»

Под влиянием паразитов (в виде моноинвазии или в ассоциации) происходят изменения в микробиоценозе рубца и кишечника.

Some regularities in the intestine microflora content under the influence of parasites have been postulated.

Введение. Организм животного в процессе эволюции превратился в экологическую среду как для полезных, так и для патогенных видов бактерий, вирусов, простейших, гельминтов и членистоногих на разных стадиях их развития. Поселение многих паразитических организмов меняет создавшийся статус, то есть влияет на течение и исход процесса. Крупные формы сильно травмируют ткани и органы, делая их доступными для проникновения микроорганизмов. Развивающийся воспалительный процесс, обильная экссудация, выход крови – все это создает условия и формирует благоприятную среду для их развития. Личинки многих зоопаразитов, мигрируя по тканям организма, активно распространяют бактерии и вирусы. Существующие условно чистые нозологические заразные заболевания являются результатом взаимодействия сочленов ценоза (антагонизм или синергизм), в итоге которого доминирует какой – то один вид возбудителя болезни. Однако существует ряд заразных болезней, обусловленных не одним, а двумя и большим числом возбудителей, что в практических условиях часто не учитывается [3, 9].

Смешанные инфекции протекают тяжелее, длительнее, часто с осложнениями и большей летальностью, с меньшей успешностью лечения. Все это происходит по той причине, что совместное действие паразитов оказывает сильнейшее действие на обменные процессы в организме, на состав крови, на состав кишечной микрофлоры, значительно снижает иммунную реактивность организма. На фоне этого происходят серьезные нарушения в функционировании различных органов и систем организма.

Одним из показателей таких нарушений является дисбактериоз кишечника, который регистрируется при многих заболеваниях, в том числе и паразитарной этиологии. Следует отметить, что на характер течения смешанных болезней и даже на их возникновение влияют не только патогенные виды, но так же представители «нормальной» микрофлоры [1, 6].

Нарушение видового состава нормальной микрофлоры под влиянием инфекционных, инвазионных и соматических заболеваний, а также в результате длительного и нерационального использования антибиотиков (или других лекарственных препаратов) приводит к состоянию дисбактериоза, который характеризуется изменением соотношения различных видов бактерий, нарушением усвояемости продуктов пищеварения, изменением ферментативных процессов, расщеплением физиологических секретов. Для коррекции дисбактериоза следует устранить факторы, вызвавшие этот процесс.

Нормальная микрофлора животного организма – совокупность множества микробиоценозов, характеризующихся определенным составом и занимающих тот или иной биотоп в организме хозяина. Суммарное количество бактериальных клеток всех микробиоценозов в сотни раз превышает общее число клеток всех тканей и органов макроорганизма (их общее число достигает 10^{14}). Это огромное число микробных клеток и их видовое разнообразие (более 400 видов) обеспечивают участие нормальной микрофлоры в самых разнообразных физиологических функциях макроорганизма [5]. Установлено, что нормальная микрофлора участвует: в регуляции газового состава кишечника и других полостей организма хозяина; обладает морфокинетическим действием; продуцирует ферменты, участвующие в метаболизме белков, углеводов, липидов и нуклеиновых кислот; продуцирует биологически активные соединения (витамины, антибиотики, токсины, и т.д.); участвует в водно-солевом обмене; в обеспечении колонизационной резистентности; в рециркуляции желчных кислот, холестерина, гормонов и других макромолекул; выполняет иммуногенную и мутагенную (либо антимутагенную) функцию; участвует в детоксикации экзогенных и эндогенных субстратов; является хранилищем микробных хромосомных и плазмидных генов; служит источником энергии для клеток хозяина. Действие микрофлоры тела на организм складывается из следующих факторов. Во-первых, нормальной микрофлоре принадлежит важнейшая роль в формировании иммунологической реактивности организма. Во-вторых, представители нормальной микрофлоры благодаря продуцированию разнообразных антибиотических соединений и выраженной антагонистической активности предохраняют органы, сообщаемые с внешней средой, от внедрения и безграничного размножения в них патогенных микроорганизмов. В-третьих, флора обладает выраженным морфокинетическим действием, особенно по отношению к слизистой оболочке тонкой кишки, что существенно отражается на физиологических функциях пищеварительного канала. В-четвертых, микробные ассоциации являются существенным звеном в печеночно-кишечной циркуляции таких важнейших компонентов желчи, как соли желчных кислот, холестерина и желчные пигменты. В-пятых, микрофлора в процессе жизнедеятельности синтезирует витамин К и ряд витаминов группы В, некоторые ферменты и, возможно, другие, пока неизвестные, биологически активные соединения. В-шестых, микрофлора исполняет роль дополнительного ферментного аппарата, расщепляя клетчатку и другие трудно перевариваемые составные части корма [6].

К резидентной микрофлоре желудочно-кишечного тракта относятся главным образом бифидобактерии, лактобактерии, бактероиды, энтерококки, эшерихии, дрожжеподобные грибы. При этом большую ее часть (до 80-90%) у здоровых моногастричных животных, в том числе и у собак, составляют бифидобактерии. Второй по численности и по физиологической значимости группой зубиотической флоры желудочно-кишечного тракта животных являются молочнокислые бактерии, представители рода *Lactobacterium*.

Кишечный тракт животных — обычное место обитания разнообразных микроорганизмов, преимущест-

венно анаэробных. Характер взаимоотношений этих микроорганизмов с хозяином может быть различным и в первую очередь зависит от особенностей его рациона.

В кишечном тракте хищных или насекомоядных находится корм, по своему биохимическому составу близкий к составу их тела. Он является также прекрасным субстратом для развития микроорганизмов. Поэтому здесь складываются конкурентные взаимоотношения микроорганизмов с хозяином. Последний не может полностью исключить возможность их развития, но ограничивает его благодаря секреции кислоты и быстрому пищеварению, в результате чего почти все продукты деятельности пищеварительных ферментов потребляются животным. Более медленное прохождение корма через толстый кишечник способствует бурному развитию микроорганизмов, и в задней кишке уже содержится огромное их количество [2].

Цель работы - изучение взаимоотношений наиболее часто встречаемых гельминтов и простейших, паразитирующих в желудочно-кишечном тракте собак с нормальной микрофлорой тонкого и толстого кишечника собак.

Материал и методика исследований. При неполном гельминтологическом вскрытии тонкого и толстого кишечника естественно зараженных паразитами собак собирали обнаруженных гельминтов, брали пробы фекалий и изучали наличие в них ооцист простейших, микрофлору тонкого и толстого кишечника. Выделенных гельминтов фиксировали: трематоды и цестоды в 70°-ном спирте, а нематоды - в жидкости Барбагалло. Перед фиксацией гельминтов промывали и помещали в воду, чтобы не допустить их высыхания. При определении видового состава гельминтов изучали их морфологические особенности и сравнивали полученные данные с имеющимися в литературе, используя методическую работу А.М. Петрова [4].

Пробы содержимого тонкого и толстого кишечника отбирали и производили высев на питательные среды не позднее 2-3 часов после смерти. Так же отбирали пробы содержимого толстого кишечника у живых животных, инвазированных различными видами паразитов. Содержимое толстого кишечника живых инвазированных животных мы получали путем отбора проб фекалий из прямой кишки.

Мы изучали микрофлору тонкого и толстого кишечника у четырех групп собак: городских, сельских, бродячих и охотничьих. Исследованию подвергались животные, инвазированные как моноинвазиями так и ассоциации паразитов: *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Dipylidium caninum*, *Taenia sp.*, *Uncinaria stenocephala*, *Iso-spora ohioensis*, *Iso-spora canis*, *Eimeria canis*. Полученные данные мы сравнивали с таковыми у здоровых животных.

В ходе своих опытов мы определяли в тонком и толстом кишечнике: количество кишечных палочек, бифидобактерий, лактобактерий, аэробных бацилл, грибов.

Полученное содержимое тонкого и толстого кишечника помещали в стерильные чашки Петри и стерильные пробирки. Фекалии разводили в физиологическом растворе в 10 раз. Из основного разведения делали ряд последующих разведений - до 10^{-7} . Для выделения изучаемых бактерий посевы производили на соответствующие агаризованные питательные среды в чашках Петри в объеме 0,1 мл суспензии фекалий различных разведений, в зависимости от предполагаемого количества тех или иных микроорганизмов. Для получения роста изолированных колоний использовали шпатели [7, 8].

Для выделения бифидобактерий использовали бифидобактериум-агар, для выделения лактобактерий - агаризованную среду MRS, в которую добавляли раствор сорбиновой кислоты в 1 M NaOH из расчета 14 г/л, простерилизованную фильтрованием, для того, чтобы избежать роста дрожжеподобных грибов рода *Candida*. Инкубацию анаэробной микрофлоры проводили в микроанаэрозоле при +37°С в течение 48 часов.

Для выделения грамотрицательных неспорообразующих факультативно-анаэробных бактерий использовали среду Эндо. При учете колоний отмечали отдельно лактозонегативные и лактозопозитивные колонии.

Для выделения микроскопических грибов использовали среду Сабуро. Инкубация посевов проводилась в течение 48-72 часов при температуре +37°С.

Количество бактерий в 1 г фекалий определяли по числу колоний, выросших на соответствующей питательной среде с пересчетом на количество посеянного материала и степень его разведения.

Ориентировочную идентификацию бифидо- и лактобактерий проводили микроскопическим методом (окраска мазка по Граму), который позволяет оценить морфологию клеток. В мазках бифидобактерии имели вид прямых или разветвленных грамположительных палочек X, Y и V-образной формы с булавовидными утолщениями на концах. Молочнокислые бактерии представляли собой прямые грамположительные палочки с закругленными концами, расположенные в поле зрения единично или цепочками. Идентификацию кишечной палочки проводили по морфолого-культуральным и биохимическим свойствам. Родовую принадлежность микромицет определяли с учетом их морфологических и культуральных особенностей.

Результаты исследований.

Данные, полученные при полных и частичных гельминтологических вскрытиях собак, показывают, что у собак в 57,14% случаев паразитирует комплекс гельминтов, включающий в себя от 2 до 7 родов. Чаще всего у собак одновременно паразитировало 2 (29,59%) и 3 рода (14,29%) гельминтов, реже - 4 (7,14%) и 5 (3,06%) родов, редко - 6 (2,04%) и 7 (1,02%) родов. Моноинвазия встречалась у собак в 42,86% случаев (рисунок 3.4.1.1.).

При паразитировании гельминтов двух родов в организме собаки преобладали следующие гельминтоценозы: токсокары - тении; дипилидиумы - унцинарии; дипилидиумы - алярии.

При паразитировании гельминтов трех родов: дипилидиумы - тении - томинксы; токсокары - алярии - тении.

При паразитировании гельминтов четырех родов: дипилидиумы - тении (2 вида) - алярии.

При паразитировании гельминтов пяти родов: токсокары - тении - унцинарии - мезоцистоиды - токсаскарисы.

При паразитировании гельминтов шести родов: токсокары - унцинарии - анкилостомы - тении (2 вида) - томинксы; дипилидиумы - тении - токсаскарисы - алярии - трихинеллы - описторхисы.

Паразитирование гельминтов семи родов было зарегистрировано нами у одной собаки. При вскрытии мы обнаружили у нее: 8 токсокар, трое дипилидиумов, 2 тении пизиформных, 68 унцинарий, 42 анкилостомы, 6 алярий и 14 трихоцефалюсов.

Анализ ассоциаций гельминтов по группам собак показал, что у бродячих и охотничьих собак преобладают паразитирование 1, 2 и 3 видов гельминтов. Наибольшее количество гельминтоценозов отмечено у сельских собак, у них преобладают сочетания 2, 3 и 4 видов гельминтов. И у городских собак отмечено значительное преобладание паразитирования одного вида гельминтов. Это мы объясняем как хорошим кормлением и содержанием городских собак, так и малым их контактом с промежуточными хозяевами гельминтов и частым диагностированием и дегельминтизациями собак.

Ассоциации гельминтов (гельминтоценозы) в различных группах собак показаны в таблице 1.

Таблица 1. Ассоциации гельминтов (гельминтоценозы) в различных группах собак (результаты дегельминтизаций)

Кол-во видов гельминтов у собак	ГРУППЫ СОБАК							
	бродячие		охотничьи		сельские		городские	
	Заражено собак	%	Заражено собак	%	Зараже но собак	%	Зараже но собак	%
1	34	35,4	28	28,9	20	21,5	57	44,7
2	13	13,5	20	20,6	21	22,6	3	2,4
3	7	7,3	10	10,3	13	14,0	1	0,8
4	3	3,1	5	5,2	7	8,6	-	-
5	1	1,0	3	3,1	6	6,5	-	-
6	-	-	-	-	1	1,1	-	-

Чем больше гельминтов входит в гельминтоценоз, тем патологические изменения в организме более заметны и животные значительно ослаблены. Все это может привести не только к возникновению тяжелых клинических симптомов и осложнению гельминтозов инфекционными заболеваниями, но и гибели большого животного.

Видовой состав эймериид *домашних* собак представлен изоспорами (цистоизоспорами): *Isospora ochioensis*, *Isospora canis* и эймериями *Eimeria canis*. У бродячих и сторожевых собак отмечена ассоциация паразитических простейших с гельминтами (*Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Dipylidium caninum*, *Uncinaria stenocephala*) и (*Toxocara canis*) соответственно.

В ходе проведенных опытов по определению влияния моноинвазий различными паразитами, а так же смешанных инвазий, представленных *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Dipylidium caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Taenia sp.*, *Isospora ochioensis*, *Isospora canis* и *Eimeria canis* на качественный и количественный состав микрофлоры кишечника, мы получили следующие результаты.

Тонкий кишечник. При исследовании фекалий у неинвазированных собак нами были выделены: бифидобактерии в количестве $7-12 \times 10^8$, молочнокислые бактерии – $9-14 \times 10^8$, *E. coli* – $4-6 \times 10^6$ КОЕ/г. Дрожжеподобные грибы обнаружены в количестве $2-5 \times 10^3$, аэробные бациллы – $2-4 \times 10^3$. Таким образом, количественная характеристика резидентных и транзитных представителей микрофлоры кишечника неинвазированных собак, соответствует таковой у животных в норме.

При исследовании фекалий у инвазированных моноинвазиями *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Dipylidium caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Eimeria canis* собак выделены: бифидобактерии в количестве $3-5 \times 10^6$, молочнокислые бактерии – $3-7 \times 10^5$, *E. coli* – $4-8 \times 10^7$ КОЕ/г. Дрожжеподобные грибы обнаружены в количестве $10-14 \times 10^4$, аэробные бациллы – $5-9 \times 10^4$.

При исследовании фекалий у инвазированных ассоциациями паразитов (*Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Dipylidium caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Taenia sp.*, *Eimeria canis*) собак выделены (в среднем): бифидобактерии в количестве $4-7 \times 10^5$, молочнокислые бактерии – $3-6 \times 10^5$, *E. coli* – $9-14 \times 10^7$ КОЕ/г. Дрожжеподобные грибы обнаружены в количестве $16-23 \times 10^4$, аэробные бациллы – $7-12 \times 10^4$.

При смешанной инвазии, представленной *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Dipylidium caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Taenia sp.*, *Isospora ochioensis*, *Isospora canis* и эймериями *Eimeria canis* изменения в составе микрофлоры тонкого кишечника так же значительнее, чем при моноинвазии. Данные факты мы связываем с тем, что эймерии и изоспоры сильно повреждают слизистую оболочку кишечника, тем самым вызывая сильное воспаление, что, в свою очередь, влияет на состав микрофлоры, а унцинарии и дипилидиумы, прикрепившись к кишечной стенке, повреждают ее целостность, тем самым вызывая сильное воспаление, что, в свою очередь, влияет на состав микрофлоры. Помимо этого унцинарии являясь гематофагами, и, паразитируя в большом количестве, способны вызывать анемию, а так же снижать сопротивляемость организма в целом. *Toxocara canis* и *Toxascaris leonina*, в свою очередь, оказывают компрессорное действие на стенки кишечника, тем самым нарушая его функции и вызывая воспаление слизистой оболочки, а так же токсическое и иммунодепрессивное действие на организм в целом.

Толстый кишечник. В содержимом прямой кишки у контрольных незараженных собак выделяли: кишечных палочек ($4-8 \times 10^8$), грибов ($3-6 \times 10^3$), лактобацилл ($7-11 \times 10^8$), бифидобактерии ($4-9 \times 10^8$), аэробных бацилл ($3-7 \times 10^3$). Таким образом, количественная характеристика резидентных и транзитных представителей микрофлоры кишечника неинвазированных собак, соответствует таковой у животных в норме.

При исследовании фекалий у инвазированных моноинвазиями *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*,

Ученые записки УО ВГАБМ, том 44, выпуск 2

Dipylidium caninum, *Uncinaria stenocephala*, *Eimeria canis* собак выделены: бифидобактерии в количестве $2-6 \times 10^5$, молочнокислые бактерии $-3-8 \times 10^5$, *E. coli* $-5-12 \times 10^7$ КОЕ/г. Дрожжеподобные грибы обнаружены в количестве $9-12 \times 10^4$, аэробные бациллы $-3-8 \times 10^4$.

При исследовании фекалий у инвазированных ассоциациями паразитов (*Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Dipylidium caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Eimeria canis*, *Taenia sp.*) собак выделены: бифидобактерии в количестве $3-6 \times 10^5$, молочнокислые бактерии $-5-9 \times 10^5$, *E. coli* $-9-14 \times 10^7$ КОЕ/г. Дрожжеподобные грибы обнаружены в количестве $12-19 \times 10^4$, аэробные бациллы $-5-12 \times 10^5$.

Из результатов опытов видно, что по сравнению с контрольной группой, микрофлора толстого кишечника собак, инвазированных как моноинвазиями, так и ассоциативными паразитозами, претерпела значительные изменения в сторону уменьшения нормальной микрофлоры (особенно со стороны бифидобактерий и лактобактерий). Вместе с тем появляются лактозо-негативные штаммы *E. coli*. Дрожжи и грибы (род *Candida*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*) так же регистрируются в большем количестве.

Результаты наших опытов показывают, что при паразитозах собак наряду с нарушением обменных процессов, нарушением морфологического состава крови, нарушением функций систем и органов, следует учитывать и изменения количественного и качественного состава микрофлоры желудочно-кишечного тракта, так как игнорируя их, невозможно будет добиться быстрого и качественного лечения животных.

Заключение. При моноинвазиях и ассоциативных паразитозах собак, вызванных *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Dipylidium caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Taenia sp.*, *Isospora ohioensis*, *Isospora canis* и эймериями *Eimeria canis* в тонком и в толстом кишечнике больных животных резко меняется количественный и качественный состав микрофлоры, интенсивность изменения которой находится в прямой зависимости от интенсивности инвазии и наличия сопутствующих инвазий. При смешанных паразитозах состав микрофлоры кишечника нарушается в большей степени, чем при моноинвазии. Это мы объясняем биологическими особенностями паразитов, а так же более тяжелым течением именно ассоциативных инвазий.

Список использованной литературы. 1. Бекл, Е.А. Дисбактериозы кишечника и их клиническое значение / Е.А. Бекл, И.Б. Куваева // Клиническая медицина, 1986. № 11. – С.12-14. 2. Васильев, М.Ф. Практикум по клинической диагностике болезней животных / М.Ф. Васильев, [и др.]; Под ред. Акад. Е.С. Воронина. – Москва: КолосС, 2004. – 269 с. :ил. (Учебники и учебные пособия для студентов высших учебных заведений). 3. Панасюк, Д.И. Проблемы ассоциации гельминтов, патогенных простейших и микрофлоры при интенсивном ведении животноводства / Панасюк Д.И., Филипов В.В., Радионов П.В. - Москва, ВАСХНИЛ, 1978.-123 с. 4. Петров, А.М. Гельминты собак / А.М. Петров. – Москва, 1941. – 348 с. 5. Пивняк, И.Г. Микробиология пищеварения жвачных / И.Г. Пивняк, Б.В. Тараканов. – Москва, 1982. – С. 231-233. 6. Пинегин, В.В. Дисбактериозы кишечника / Пинегин, В.В., Мальцев В.Н., Коршунов В.М. - Москва, 1984.- 211 с. 7. Практикум по общей микробиологии: учеб. пособие / А.А. Солонко [и др.]; под ред. А.А. Гласкович. – Минск : Ураджай, 2000. – 280 с.: ил. 8. Тараканов, Б.В. Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы. – Москва, Научный мир, 2006. – 188 с. 9. Урхарт, Г.М. Ветеринарная паразитология / Г.М. Урхарт [и др.] - Москва: Аквариум ЛТД, 2000.- 352 с.

УДК 619:616.99:636.57

МИКРОБИОЦЕНОЗ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ТЕЛЯТ И ВЛИЯНИЕ НА НЕГО ПАЗИТАРНЫХ АГЕНТОВ

Субботина И.А., Сандул А.В., Субботин А.М., Мироненко В.М.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»,
Витебск, Республика Беларусь

Под влиянием паразитов (Neosascaris vitulorum в виде моноинвазии или в ассоциации с Eimeria spp. и Strongylata spp.) происходят изменения в микробиоценозе рубца и кишечника.

Some regularities in the rumen and intestine microflora content under the influence of parasites (e.g. N. vitulorum and in association with Eimeria spp. and Strongylata spp) have been postulated.

Введение. Экологическая система, компонентами которой является макроорганизм, его микрофлора и окружающая среда характеризуется единством и способностью к саморегуляции. Пищеварительный тракт представляет собой открытую систему, посредством которой осуществляется контакт макроорганизма с внешней средой и присутствующими в нем микробами. Для нормального функционирования пищеварительной системы существенную роль играет состояние ее микробиоценоза.

Микробиоценоз рубца. Корм в рубце жвачных переваривается под действием микроорганизмов – бактерий, простейших, грибов. Преобразуя питательные вещества кормов в структуры собственного тела, микроорганизмы после гибели и прохождения в сычуг и кишечник, сами служат для организма животного важнейшим источником питания. В сутки взрослые животные за счет микроорганизмов до 400-450 грамм полноценного белка и удовлетворяют свою суточную потребность в нем на 20-30%. По мнению некоторых исследователей, взрослые жвачные могут полностью удовлетворять свою суточную потребность в белке за счет микроорганизмов. Кроме того, макроорганизм использует метаболических целях промежуточные и конечные продукты бактериальной ферментации. Под действием микроорганизмов в преджелудках расщепляется 95% сахаров и крахмала, 70% клетчатки (30% в толстом кишечнике) и 40-80% протеина.

В рубце жвачных создана почти идеальная среда для размножения микрофлоры и микрофауны. Постоянно поступающая слюна содержит необходимые для их роста и развития бикарбонаты, натрий, калий, фосфаты, мочевину, аскорбиновую кислоту. Поддерживается постоянная температура (39-40 С) и газовый состав. Реакция содержимого рубца у здоровых животных при сбалансированном кормлении нейтральная, слабокис-