

УДК 636.2.053:612.326.3

МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Вербицкий А.А, Велева Е.Р.

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

Введение. Здоровье телят было и остается фактором, который является решающим в получении высокопродуктивного поголовья, тем самым определяя экономическое благополучие животноводства. Несмотря на изобилие схем, направленных на профилактику заболеваний телят в неонатальный период, развитие патологий, основанных на нарушении формирования микробиома кишечника новорожденных телят, является актуальной проблемой.

Микробиоту кишечника можно по праву считать автономным органом, так как в последнее время очевидна ее функциональная значимость, не уступающая другим органам. Одной из важнейших функций является участие в метаболических процессах. Микрофлора кишечника участвует практически во всех видах обмена веществ. Она может переваривать различные кормовые ингредиенты, белки, жиры и углеводы. Способна синтезировать витамины В1, В2, В3, В5, В6, В12, К, фолиевую кислоту. Кроме того, микроорганизмы, составляющие нормальный микробиоценоз, активно участвуют в создании колонизационной резистентности, основанной на способности отдельных бактерий прикрепляться к рецепторам эпителиальных клеток слизистой оболочки кишечника, создавая препятствия адгезии патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Антагонистическая активность проявляется в различных биохимических механизмах: продукции антимикробных соединений, бактериоцинов, короткоцепочных жирных кислот. Нормальная микробиота активизирует местный иммунитет кишечника, а также иммунную систему всего организма [1, 2].

Таким образом, микробиом кишечника – это сообщество микроорганизмов, которые непрерывно, сложно и многоступенчато взаимодействуют между собой и макроорганизмом, выполняя ряд жизненно важных функций (метаболических, защитных, иммунных, антитоксических).

Считается, что при рождении кишечник телят стерилен. Заселение кишечника микроорганизмами начинается в период прохождения плода через родовые пути, дальнейшее формирование микробиома зависит от своевременной выпойки молозива, а также санитарно-гигиенических аспектов содержания. Отклонения, нарушения и неправильное выполнение данных пунктов приводит к возникновению желудочно-кишечных патологий, вследствие дисбиотических нарушений [4, 5].

Для поддержания колонизационной резистентности кишечника, микробиом должен состоять на 80-90% из бифидо- и лактобактерий. Однако в первые дни жизни желудочно-кишечный тракт заселяется преимущественно энтеробактериями, энтерококками и другими микроорганизмами, тогда как физиологический уровень численности бифидо- и лактобактерий устанавливается лишь к 20-25-дневному возрасту. В результате этого кишечный микробиоценоз остается до конца не сформированным, и колонизационная резистентность кишечника находится на низком уровне [1-5].

Целью данного исследования явилось изучение состава кишечного микробиома новорожденных телят и уточнение данных по формированию нормобиоценоза, а также по этиологии возникновения его нарушений.

Материалы и методы исследований. Опыт проводили, используя количественный микробиологический анализ микробных маркеров методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС), позволяющим определить концентрацию микроорганизмов непосредственно в анализируемом материале. Исследуемый биотоп – тонкая кишка новорожденных телят. Анализируемый материал - кровь, взятая в течение часа после рождения методом «сухая капля». Микробиологический анализ микробных маркеров методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии основывается на идентификации микроорганизмов по составу синтезируемых ими жирных кислот, для которых характерна родо- и видоспецифичность. Суть анализа заключается в извлечении с помощью химической процедуры высших жирных кислот из исследуемого образца, их разделения на хроматографе и анализа состава на масс-спектрометре [8, 9].

Параллельно были взяты пробы из прямой кишки для проведения исследований общепринятыми микробиологическими методами, которые включали в себя микроскопическое исследование мазков, окрашенных по Грамму, выделение чистой культуры и идентификацию по биохимическим свойствам с помощью автоматического микробиологического анализатора Vitek 2 [7]. Отбор проб проводили с помощью тампона-зонда с транспортной средой в пробирке, предназначенного для взятия образцов биологического материала с возможностью их безопасной транспортировки в лабораторию для проведения анализа в течение 48 часов.

Результаты исследований. С помощью общепринятых микробиологических методов в пробах были обнаружены и идентифицированы микроорганизмы родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, а также бактерии сем. *Enterobacteriaceae*.

Наиболее содержательными и точными явились результаты, полученные с помощью метода газовой хроматографии - масс-спектрометрии. Была определена концентрация более 50 микроорганизмов. Результаты приведены в таблице.

Исследование методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии микробных маркеров тонкой кишки, по капле крови показало, что бактериальная нагрузка кишечника новорожденных телят высока и включает в себя разнообразие резидентных, транзитных бактерий, а также микроскопических грибов и вирусов.

Идентифицированы микроорганизмы, которые могут оказывать значительное влияние на формирование микробиома кишечника, а в избыточном количестве вызывать нежелательные последствия. Микроорганизмы родов *Actinomyces*, *Alcaligenes*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eggerthella*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Nocardia*, *Propionibacterium*, *Pseudonocardia*, *Rhodococcus*, *Ruminococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* являются резидентными представителями микробиома кишечника и их присутствие допустимо.

Исходя из данных таблицы, отмечается высокая концентрация следующих бактерий. *Clostridium* - известно, что в случае избыточного роста клостридии вырабатывают сильные бактериальные экзотоксины, также ряд протеолитических ферментов, что приводит к локальному повреждению тканей. *Ruminococcus*

расщепляют целлюлозу, в большом количестве заселяют рубец жвачных и толстую кишку, синтезируют гем, который требуется организму для производства элементов крови. *Staphylococcus* вызывают множество заболеваний, среди которых гнойные инфекции, интоксикации, инфекции мочевых путей. *Streptococcus* могут являться причиной довольно большого количества опасных заболеваний от кормовых отравлений до гнойных процессов практически в любой точке организма [6,7].

Из транзиторных микроорганизмов, наличие которых не предусматривается в нормобиоценозе кишечника, тем самым указывает на наличие патологического процесса, отмечается присутствие *Clostridium difficile*. Данный вид обладает способностью продуцировать экзотоксины, повреждающие кишечную стенку. В большом количестве в состав микробиома кишечника входят микроскопические грибы рода *Candida*. Это условный патоген, который живет на слизистых оболочках, выделяет токсины, которые ослабляют иммунную систему. Также обращает на себя внимание значительное количество вируса герпеса, который может активно действовать в составе микробно-вирусных ассоциаций.

Следует отметить, что у телят, у которых отмечалась высокая концентрация бактерий родов *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, в последующем наблюдались клинические признаки нарушения нормобиоценоза, проявляющиеся диареей.

Исследования микробиоты кишечника новорожденных телят позволяют сделать вывод, что уже к моменту рождения сформирован бактериальный фон, на который будут наслаиваться микроорганизмы, попадающие в кишечник в первые дни неонатального периода. Таким образом, изначально микробиом кишечника начинает формироваться в момент внутриутробного развития. В зависимости от состава микрофлоры беременной коровы (нормоценоз или дисбиотическое состояние) и функционального состояния плацентарной системы формируется микробиом новорожденного теленка, то есть происходит колонизация представителями нормальной микрофлоры или условно патогенными микроорганизмами.

Можно сделать вывод об актуальности и необходимости применения с первых часов жизни средств, которые будут поддерживать развитие и количество полезной индигенной микрофлоры и подавлять патогенную. Важно обратить внимание на то, что в качестве этих средств преимущественно использовать биологически активные препараты природного и микробного происхождения, обладающие высокими терапевтическими и иммуностимулирующими свойствами, не снижающими качества продуктов животноводства.

Таблица - Средние значения концентрации микроорганизмов в тонком кишечнике новорожденных телят по данным метода газовой хроматографии - масс-спектрометрии.

№ п/п	микроорганизмы	кл/г×10 ⁵	№ п/п	микроорганизмы	кл/г×10 ⁵
1	Actinomyces spp	5,5	29	Bacillus cereus	0
2	Actinomyces viscosus	256,7	30	Bacteroides fragilis	0
3	Alcaligenes spp	78,7	31	Bacteroides hypermegas	0
4	Bifidobacterium spp	80,5	32	Campylobacter mucosalis	0
5	Clostridium coccoides	220,8	33	Clostridium difficile	645,2
6	Clostridium perfringens	2,5	34	Clostridium hystoliticum	0
7	Clostridium propionicum	33,1	35	Enterococcus spp	0
8	Clostridium ramosum	1080,3	36	Flavobacterium spp	0
9	Clostridium tetani	2021,7	37	Helicobacter pylori	0
10	Corineform CDC-group XX	0	38	Kingella spp	0
11	Eggerthella lenta	262,4	39	Acinetobacter spp	0
12	Eubacterium spp	2557,2	40	Peptostreptococcus anaerobius 17642	0
13	Fuzobacterium/Haemophylus	0	41	Peptostreptococcus anaerobius 18623	0
14	Lactobacillus spp	5891,8	42	Porphyromonas spp	0
15	Lactococcus spp	543,1	43	Prevotella ruminicola	0
16	Nocardia asteroides	272	44	Pseudomonas aeruginosa	0
17	Prevotella spp	0	45	сем. Enterobacteriaceae (E. coli и пр)	0
18	Propionibacterium acnes	26,9	46	Candida spp	2783,1
19	Propionibacterium freudenreichii	532,8	47	Aspergillus spp	18,4
20	Propionibacterium jensenii	9,4	48	Micromycetes spp (кампестерол)	479,2
21	Pseudonocardia spp	7	49	Micromycetes spp (ситостерол)	435,9
22	Rhodococcus spp	143,9	50	Herpes simplex	1475
23	Ruminococcus spp	1249,7	51	Вирус Эпштейна-Барр	69,7
24	Staphylococcus	1055,3	52	Цитомегаловирус	0
25	Staphylococcus epidermidis	0	53	Bacillus megaterium	0
26	Streptococcus mutans (анаэроб)	1204,5	54	Chlamidia trachomatis	0
27	Streptococcus spp	193,3	55	Mycobacterium spp	0
28	Streptomyces spp	25,1	56	Propionibacterium spp	0
			57	Stenotrophomonas maltophilia	0
			58	Streptomyces farmamarensis	0

Заключение. Микробиом кишечника новорожденных телят представлен широким спектром микроорганизмов разнообразных видов, относящихся в основном к резидентной микрофлоре, за исключением тех случаев, когда у стельной коровы наблюдаются дисбиотические нарушения различной этиологии. Количественный микробиологический анализ исследования микробных маркеров с

использованием метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии дал точную характеристику состава микробиоты кишечника новорожденных телят с определением концентрации присутствующих микроорганизмов, что дает возможность пересмотреть, уточнить и усовершенствовать профилактические и лечебные мероприятия, направленные на формирование нормобиоценоза у телят в неонатальный период.

Литература. 1. Афанасьев, В. А. Микробный пейзаж кишечника телят в норме и при диспепсии / В. А. Афанасьев, А. А. Эленилегер // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2017. – № 5. – С. 137-140. 2. Исследование количественного и видового состава бактерий при дисбактериозах кишечника телят / И. А. Кондакова [и др.] // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П. А. Костычева. – 2017. – № 3. – С. 38-43. 3. Антибиотикочувствительность и антибиотикорезистентность патогенных и условно-патогенных энтеробактерий, выделенных из кишечника новорожденных телят / Д. А. Желябовская [и др.] // Вестник КрасГАУ. – 2017. – № 11. – С. 27-33. 4. Горковенко, Н. Е. Острые кишечные расстройства новорожденных телят бактериальной этиологии / Н. Е. Горковенко, Ю. А. Макаров, А. М. Кузьменко // Труды ВИЭВ. – 2009. – Т. 75. – С. 179-181. 5. Моторыгин, А. В. Определение качественного и количественного состава микроорганизмов при дисбактериозе кишечника у телят / А. В. Моторыгин, Е. М. Ленченко // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 2. – С. 103-107. 6. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. / Р. Беркли [и др.] ; под ред. Дж. Хоулта [и др.]. – 9-е изд. – Москва : Мир, 1997. – 2 т. 7. Справочник по бактериологическим методам исследований в ветеринарии / сост. : А. Э. Высоцкий, З. Н. Барановская. – Минск : Белтаможсервис, 2008. – 824 с. 8. Осипов, Г. А. Хромато – масс-спектрометрический анализ микроорганизмов и их сообществ в клинических пробах при инфекциях и дисбиозах / Г. А. Осипов // Химический анализ в медицинской диагностике. – Москва : Наука, 2010. – С. 293-368. 9. Осипов Г. А. Клиническое значение исследование микроорганизмов слизистой оболочки кишечника культуральным, биохимическим и хромато-масс-спектрометрическими методами / Г. А. Осипов, А. И. Парфенов, Н. В. Верховцева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2004. – № 5. – С. 27.

УДК 636.086

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОРМОВ В МОЛОЧНОМ СКОТОВОДСТВЕ

Ганущенко О.Ф., Разумовский Н.П., Возмитель Л.А.

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

Введение. Животноводство - ведущая отрасль агропромышленного комплекса Республики Беларусь, развитие которой определяет, с одной стороны уровень удовлетворения общества в ценных продуктах питания, с другой, экономическое благополучие аграрного сектора, народного хозяйства. Поэтому деятельность большинства предприятий направлена на получение определённых