

УДК 636.2:636.087.8

ЕСТЕСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ТЕЛЯТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Н. С. ШЕВЕЛЕВ, Т. СПАСКАЯ

(Кафедра физиологии и биохимии
сельскохозяйственных животных)

Изучали естественную резистентность телят в раннем постнатальном периоде при использовании пробиотических препаратов и входящих в их состав культур микроорганизмов. При анализе учитывали параметры клеточного иммунитета по вариациям относительного и абсолютного числа Т-лимфоцитов и их субпопуляций (Т-хелперов и Т-супрессоров); функциональную активность В-лимфоцитов оценивали по концентрациям основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови подопытных животных.

Состояние организма животных, его резистентность во многом определяются темпами формирования у них иммунных реакций в неонатальный период. При внутриутробном развитии копытных животных передача материнского иммунитета отсутствует. Насыщение кровотока новорожденных специфическими факторами защиты происходит лишь колостральным путем. Иммуносекреция собственных антител индуди-

руется заселяющими желудочно-кишечный тракт микроорганизмами. В зависимости от того, к какой группе относятся колонизирующие микроорганизмы (патогенные, условно-патогенные или сапрофиты, эволюционно закрепившиеся и постоянно существующие в организме), будет определяться интенсивность антигенного воздействия на формирующуюся иммунную систему животного и его состояние.

В настоящее время одной из старых проблем животноводства является падеж молодняка в первые недели после рождения, вызываемый энтеритными инфекциями. В этой связи в последние годы возрос интерес ученых и практиков к использованию микроорганизмов в сельскохозяйственном производстве в качестве как кормовых средств, так и биологических регуляторов метаболических процессов: пробиотиков, ферментных препаратов, витаминов [1].

В 1989 г. R. Fuller понятие пробиотик сформулировал как «живая микробная кормовая добавка, которая оказывает полезное действие на животного-хозяина путем улучшения его кишечного микробного баланса». Пробиотики нашли применение для профилактики и лечения желудочно-кишечных болезней инфекционной природы у молодняка млекопитающих животных и птицы; для стимуляции иммунных реакций, а также профилактики и лечения расстройств пищеварительного тракта алиментарной этиологии (диареи, дисбактериозы, острые молочнокислые ацидозы и т. д.), возникающих вследствие изменения состава рациона, нарушений режимов кормления, технологических стрессов и других причин [4].

Механизм иммуномодулирующего действия пробиотиков связывают со сравнительно недавно установленным явлением бессимптомной транслокации микробов, входящих в состав препаратов, в кровь и паренхиматозные органы. Лактобациллы способны мигрировать из кишечника в системную циркуляцию и могут много дней выживать в селезенке, печени и легких. *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus plantarum*, вводимые парентерально, стимулировали фагоцитарную активность; при даче *Lactobacillus plantarum per os* также увеличивалась природная киллерная клеточная активность [3]. Эти данные о системном действии лактобацилл на иммунитет показывают, что пробиотики не только имеют потенциал в балансирующем действии на кишечную флору, но и влияют на патогенез заболеваний, которые встречаются в тканях, удаленных от пищеварительного тракта [4]. Полезные эффекты от применения пробиотиков опосредуются через прямое антагонистическое действие против специфических групп микроорганизмов (образование антибактериальных веществ, конкуренция за питательные вещества и места адгезии), изменение микробного метаболизма (увеличение или уменьшение ферментативной активности) [2].

Установлено, что лактобациллы обладают выраженными ингибирующими свойствами против кишечных патогенов. Это специфическое действие обусловлено продукцией таких антибиотиков, как ацидофилин, лактолин и ацидолин, которые вместе с молочной кислотой обеспечивают высокую антимикробную активность против энтеропатогенных эшерихий, сальмонелл, стафилококков и ряда других микроорганизмов. Помимо образования специфических антибиотиков, ингибирование патогенов может быть обусловлено продуктами метаболизма лактобацилл. Они образуют значительные количества уксусной, муравьиной, молочной кислот, перекиси водорода, что изменяет рН среды до 4,5 и ниже.

Конкуренция за питательные вещества проявляется в способности одних видов односторонне обеднять среду необходимыми для роста элементами, тем самым ингибировать развитие других видов микроорганизмов. В этом отношении наиболее эффективны лактобациллы. Другим механизмом предотвращения колонизации кишечника патогенами является конкуренция за места адгезии на поверхности кишечного эпителия. Прикрепление обеспечивает микроорганизму

устойчивость к вымыванию из кишечника. Высокая адгезивная способность отмечена у лактобацилл и бифидобактерий.

Кроме того, пробиотики по сравнению с антибиотиками обладают экологической пластичностью. При применении антибиотиков энтеропатогенные штаммы приобретают устойчивость к лекарственным препаратам, что приводит к необходимости увеличения доз или поиска новых видов антибиотиков.

Вышеизложенные данные, характеризующие действие пробиотиков, позволяют заключить, что механизмы лечебно-профилактического и иммуномодулирующего действия пробиотических препаратов носят многоплановый и многофакторный характер. Это открывает широкие перспективы дальнейшего изучения и применения пробиотиков в животноводстве и птицеводстве.

Среди отечественных пробиотиков нашли применение в практике животноводства и птицеводства следующие: *целлобактперин* (содержит целлюлозолитические бактерии рубца, применяется для повышения эффективности использования грубых кормов жвачными); *стрепттофагин* (содержит стрептоспецифические бактериофаги, лизирующие чувствительные

к ним штаммы амилолитических стрептококков рубца жвачных, предназначен для скармливания высокопродуктивным лактирующим коровам, содержащимся на высококонцентрированных рационах, в качестве средства регуляции метаболических процессов в рубце); *лактоамиловорин*. (на основе *Lactobacillus amylovorus*), предназначен при диарейных заболеваниях телят и поросят, для нормализации микробного баланса в пищеварительном тракте и замены антибиотиков в стартерных корбикормах); *энтсрацид* (комплексный препарат, содержащий живые молочнокислые микроорганизмы: энтерококки, бифидобактерии и ацидофильные палочки, применяется для профилактики желудочно-кишечных болезней, дисбактериозов вследствие антибактериальной терапии, для повышения резистентности организма и стимуляции продуктивности свиней и кур); *руменолакт* (изготовлен на основе стрептококков и лактобацилл, предназначен для профилактики и лечения диареи новорожденных животных, нормализации состава кишечной микрофлоры при дисбактериозах); *максилин* (содержит чистую культуру ацидофильных бактерий, применяется с целью профилактики

и лечения поросят и телят при диарейных болезнях и дисбактериозе кишечника); *бифидумбактерин* (микробная масса активных бифидобактерий, применяется с целью профилактики и лечения при желудочно-кишечных болезнях и улучшения функции желудочно-кишечного тракта, обеспечения оптимального роста животного).

Целью нашей работы было изучение влияния пробиотических препаратов (руменолакта, биосана и бифидумбактерина) на формирование неспецифической резистентности и иммунного статуса организма телят в раннем постнатальном периоде.

Методика

В 1992—1996 гг. проведено 3 серии опытов в хозяйствах АО «Бибелево» Ферзиковского района и АО «Новые Старки» Дзержинского района Калужской обл. Объектами исследований были телята черно-пестрой породы в возрасте от 10 до 40 дней. Для первой серии опытов методом пар-аналогов были сформированы 4 группы телят по 10 гол. в каждой; для второй и третьей — по 3 группы телят по 10 гол. в каждой. Телята содержались в идентичных условиях, соответствующих зоотехническим и гигиеническим нормам. Во всех

опытах в течение 30 дней телят контрольных и опытных групп выпаивали по стандартной общепринятой схеме с приучением с 3-недельного возраста к концентрированным и грубым кормам.

В первой серии опытов животные I (контрольной) группы с основным рационом получали антибиотик левомецетин (0,5 г на 1 гол. в сутки), телята II, III и IV (опытных) групп — пробиотик руменоллакт соответственно по 0,25, 0,5 и 1,0 на 1 гол. в сутки.

Во второй серии опытов телята I (контрольной) группы получали антибиотик кормогризин (0,5 г на 1 гол. в сутки), животные II и III (опытных) групп — пробиотик биосан соответственно по 2 и 3 условные дозы на 1 гол. в сутки. В третьей серии опытов телята I (контрольной) группы получали основной рацион без добавок. Телятам II и III (опытных) групп скармливали бифидумбактерин соответственно по 2 и 3 условных дозы.

Пробиотические препараты представляют собой сухие однородные порошки от светло-серого до светло-бежевого цвета со слабым специфическим запахом, легко суспензируются в воде.

Перед применением пробиотики растворяли в охлажденной кипяченой воде и выпаивали телятам с молоком.

Результаты

Используемые в исследованиях пробиотические добавки оказывали влияние на комплекс физиологических, гематологических показателей телят, активизировали защитные реакции организма: как неспецифическую резистентность, так и специфические клеточные и гуморальные реакции, поскольку основой для выработки полноценного иммунитета являются неспецифические факторы защиты.

Установлено, что малые дозы пробиотиков не дают значительного эффекта по сравнению с контрольными вариантами, в которых применялись антибиотики, хотя при использовании даже небольших концентраций микроорганизмов наблюдался положительный сдвиг. Поэтому оценку действия препаратов мы проводили по наиболее эффективным вариантам.

Пробиотические добавки оказали влияние на такие показатели неспецифической резистентности, как содержание в сыворотке крови подопытных животных комплемента, лизоцима, бактерицидная, бета-литическая и фагоцитарная активность. Так, содержание комплемента при добавках руменолакта в дозе 0,5 г на голову в сутки возросло на 10,1% по сравнению с контролем, биосана

(3 дозы на голову в сутки) — на 9,3%, бифидумбактерина (3 дозы на голову в сутки) — на 4,8%. Концентрация лизоцима возросла в первом опыте на 5,1%, во втором — на 2,1%, в третьем — на 3,9% к контролю.

Наибольшие изменения наблюдались в показателях бактерицидной активности сыворотки крови и были выше контрольных соответственно по опытам на 37,7, 42,5 и 22,48%. Бета-литическая активность при добавках руменолакта увеличивалась на 21,9% по сравнению с контролем, биосана — на 34,4%, бифидумбактерина — на 18,8%; активность фагоцитоза изменилась в первом опыте — на 14,4%, во втором — на 23,3%, в третьем — на 9,1%

Таким образом, наибольшее влияние на комплекс факторов неспецифической резистентности оказали препараты руменолакт (0,5 г на голову в сутки) и биосан (3 дозы на голову в сутки).

Оценка иммунного статуса организма животных предполагает характеристику клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Изменения параметров клеточного иммунитета под влиянием пробиотических препаратов мы рассматривали по вариациям относительного и абсолютного числа Т-лимфоцитов и их субпопуляции (Т-хелпе-

ров и Т-супрессоров). Как следует из табл. 1, абсолютное число и процент розеткообразующих Т-клеток при включении в рацион телят пробиотических добавок повысились с $2,94 \pm 0,49$ тыс/мм³ (49%) до $3,13 \pm 0,39$ тыс/мм³ (56,2%) при использовании руменолакта, с $2,9210,21$ тыс/мм³ (31,3%) до $3,66 \pm 0,14$ тыс/мм³ (64,60%) при использовании биосана и с $2,62 \pm 0,24$ тыс/мм³ (53,5%) до $3,42$ тыс/мм³ (65,2%) при добавках бифидумбактерина.

По данным Г. А. Симоняна (1995), среди лимфоцитов периферической крови различных видов животных и человека Т-клетки составляют в среднем 70%. Т-лимфоциты, особенно Т-хелперы, являются центральными в обеспечении и характеристике иммунного ответа, определяя его интенсивность и продолжительность. В наших исследованиях абсолютное число Т-хелперов и их процентное количество к общему числу лимфоцитов в крови телят контрольных групп в первом опыте было $0,81 \pm 0,07$ тыс/мм³, или 27,6%, во втором — $0,87 \pm 0,02$ тыс/мм³, или 29,8%, в третьем — $0,98 \pm 0,02$ тыс/мм³, или 37,3%.

Процентное соотношение Т-супрессоров снизилось в первом и во втором опытах соответственно на 4,7 и 3,3%. В третьем опыте, напротив, повысилось на 2,8%. Сравнить

полученные результаты с нормативными не представляется возможным, поскольку для животных таковые отсутствуют.

Иммунорегуляторный индекс (соотношение Т-хелперов и Т-супрессоров) считается оптимальным для человека в пределах 1,5—2 (S. Limatibul, 1978). Повышение данного показателя — хороший прогностический признак, свидетельствующий об активации иммунной системы, что наблюдалось в наших исследованиях.

Функциональную активность В-лимфоцитов мы оценивали по концентрации в сыворотке крови подопытных животных основных классов иммуноглобулинов, поскольку иммуносекретия антител индуцируется микроорганизмами, заселяющими желудочно-кишечный тракт. Так, количество IgG при включении в рацион руменолакта возросло на 11,5%, биосана — на 10,9%, бифидумбактерина — на 15,5. В работах П. А. Емельяненко (1980) указывается, что концентрация эндогенных IgG в сыворотке крови телят до приема молозива мала, в пределах $0,52 \pm 0,08$ мг/мл, поэтому иммуноглобулины не могут обеспечить эффективную защиту организма. Затем, после приема молозива, а также контакта с микробными анти-

генами иммуноглобулины этого класса начинают активно синтезироваться в организме. Повышение качества иммуноглобулинов класса G в сыворотке крови подопытных животных можно рассматривать как реакцию иммунной системы на микробные антигены пробиотических препаратов.

Индукторами для выработки IgM являются микроорганизмы, заселяющие желудочно-кишечный тракт. В наших опытах количество IgM в сыворотке крови телят опытных групп, получавших пробиотические препараты, возросло в сравнении с показателями контрольных животных, которым давали антибиотики, соответственно по трем опытам на 28,9, 14,2 и 21,4%.

В отличие от других классов следовые количества IgA обнаруживаются только в сыворотке крови новорожденных телят и отсутствуют в крови плодов. Это объясняется тем, что IgA синтезируется в плазмочитах слизистых при контакте с симбионтной микрофлорой. В наших исследованиях наибольшее воздействие пробиотические препараты оказали на секрецию IgA. Так, при добавках руменолакта, биосана и бифидумбактерина содержание IgA в сыворотке крови подопытных животных возросло в сравнении с контролем соответственно на 35,9, 100 и 44,2%,

Т а б л и ц а 1

Содержание лимфоцитов и их субпопуляций в периферической крови телят при добавках в рацион пробиотиков (доза на 1 гол. в сутки; n=10)

Показатель	Руменолакт, 0,5 г		Биосан, 3 дозы		Вифидумбактерин, 3 дозы	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Лимфоциты, %	6,01±0,01 ^a	5,58±0,17 ^b	5,7±0,16 ^a	5,66±0,1 ^a	4,91±0,21 ^a	5,22±0,12 ^a
Т-лимфоциты:						
% ¹	49,0±0,5 ^a	56,2±0,1 ^r	51,3±0,4 ^r	64,6±0,2 ^r	53,5±0,1 ^a	65,2±0,3 ^r
тыс/мм ³	2,94±0,49 ^a	3,13±0,36 ^a	2,92±0,21 ^a	3,66±0,14 ^a	2,62±0,24 ^a	3,42±0,18 ^b
Т-хелперы:						
% ¹	27,6±0,3 ^a	39,5±0,1 ^r	29,8±0,0 ^a	46,4±0,1 ^r	37,3±0,1 ^a	45,7±0,3 ^r
тыс/мм ³	0,81±0,7 ^a	1,23±0,03 ^a	0,87±0,02 ^a	1,69±0,02 ^b	0,98±0,02 ^a	1,56±0,01 ^r
Т-супрессоры:						
% ¹	21,4±0,2 ^a	16,7±0,1 ^r	21,5±0,1 ^a	18,2±0,2 ^r	16,2±0,02 ^a	19,0±0,1 ^r
тыс/мм ³	0,63±0,01 ^a	0,53±0,06 ^a	0,62±0,001 ^a	0,67±0,01 ^a	0,42±0,003 ^a	0,68±0,01 ^r
Тх/Тс	1,29	2,32	1,4	2,52	2,3	2,29

Т а б л и ц а 2

Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови телят при введении в рацион различных пробиотиков (доза на 1 гол. в сутки; n=10)

Иммуноглобулины (мг/мл)	Руменолакт, 0,5 г		Биосан, 3 дозы		Вифидумбактерин, 3 дозы	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
IgG	13,0±1,1 ^a	14,5±1,0 ^a	15,5±1,36 ^a	17,2±1,41 ^a	13,85±1,17 ^a	16,0±1,21 ^a
IgM	1,94±0,12 ^a	2,5±0,13 ^a	1,69±0,09 ^a	1,95±0,14 ^a	2,1±0,21 ^a	2,55±0,23 ^a
IgA	0,39±0,06 ^a	0,53±0,01 ^b	0,3±0,05 ^a	0,6±0,09 ^b	0,43±0,001 ^a	0,62±0,17 ^b

при этом статистически достоверные различия получены во всех сериях опытов.

Таким образом, использование пробиотических препаратов можно рассматривать как введение в организм дополнительных количеств антигенов, не оказывающих негативного влияния, а выступающих раздражителями иммунной системы, активаторами специфической защиты организма, вследствие чего повышается образование иммуноглобулинов различных классов. Все исследуемые пробиотические препараты обладали иммуномодулирующим действием, влияя в большей степени на выработку иммуноглобулинов класса А.

Выводы

1. Пробиотические препараты — руменолакт, биосан и бифидумбактерин — оказывают многостороннее биологическое действие на организм телят в раннем постнатальном периоде.

2. Пробиотики обладают иммуномодулирующими свойствами, что указывает на тесную связь между иммунным статусом организма и заселе-

нием микрофлорой желудочно-кишечного тракта.

3. Под влиянием пробиотических препаратов изменяется комплекс факторов неспецифической резистентности организма телят, а также клеточное и гуморальное звенья иммунной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Воронин Р. В., Петров В. С.* Иммуномодуляторы и пробиотики при болезнях молодняка — перспективное направление в ветеринарной медицине. / Тез. докл. Всерос. науч. конф. «Иммунодефициты сельскохозяйственных животных». М.: 1994. — 2.
2. *Грязнева П. П., Павлова И. Б.* Биологические средства коррекции микробоценоза кишечника телят. — Ветеринария, 1991, № 7, с. 23—24. — 3.
3. *Смирнов В. В., Резник С. Р.* Современные представления о механизмах лечебно-профилактического действия пробиотиков. — Микробиологический журнал, 1993, т. 55, № 5, с. 92—105. — 4. *Тараканов Б. В.* Использование пробиотиков в животноводстве. Калуга: Изд-во департамента сельск. хоз-ва и прод., 1998.

*Статья поступила
10 апреля 2000 г.*

SUMMARY

The results of studying natural resistance of calves in early postnatal period with using probiotic preparations and contained in them cultures of microorganisms are presented.