УДК 619:616.84:619:615.3

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННОЙ ПАРТИИ ПРЕПАРАТА БИЛАВЕТ-С**

**А.Н. Михалюк, М.А. Каврус, Л.С. Козел, В.М. Обуховский,**

**В.В. Репкина**

УО **«**Гродненский государственный аграрный университет»,

г. Гродно, Республика Беларусь,

*(Поступила в редакцию 02.06.2010 г.)*

***Аннотация.*** *Результаты исследований показали, что выпаивание новорожденным телятам в течение первых шести дней жизни пробиотического препарата Билавет-С с молозивом, а затем с молоком в дозе ~ 107 КОЕ/мл на одну голову в сутки способствует активизации клеточного и гуморального иммунитета, метаболических процессов, окислительно-восстановительных реакций организма, снижению заболеваемости животных на 92,8% и сокращению продолжительности болезни на 3 суток.*

***Summary.*** *Results of researches have shown, that feeding of newborn calfs within first six days of a life with a probiotic preparation Bilavet-C with a colostrum and milk in a dose ~ 107 bacteria/ml on one head a day promotes activization of immunity, metabolic processes, oxidation-reduction reactions of an organism, decrease in disease of animals on 92,8 % and shortening of illness duration for 3 days.*

Введение. С момента рождения организм животных и человека начинает заселяться разнообразными бактериями. Первоначально этот факт было принято рассматривать с отрицательной точки зрения и всячески ему препятствовать. Затем благодаря более глубокому изучению взаимоотношений между микро- и макроорганизмами стало понятно, что физиологическая активность и здоровье последних очень сильно зависят от видового состава бактерий, населяющих их желудочно-кишечный тракт. Наступил период более бережного и обдуманного отношения к микросимбионтам. Появились препараты, названные пробиотиками, представляющие собой культуры полезных бактерий, предназначенные для включения в пищу животных или человека [1, 3, 4, 7].

В ветеринарии их применяли в основном для повышения сохранности молодняка и терапии заболеваний желудочно-кишечного тракта. О влиянии микроорганизмов, населяющих кишечник, на процессы пищеварения длительное время не задумывались всерьёз. Стимулом к изучению этого вопроса послужили возросшие требования потребителей к биологической чистоте продукции и, следовательно, необходимость отказа от постоянного использования антибиотиков в кормлении животных. Оказалось, что бактерии, населяющие поверхность ворсинок тонкого кишечника, играют огромную роль в расщеплении и всасывании питательных веществ корма. Синтезируя ферменты, отсутствующие у животного-хозяина, они разрушают некоторые компоненты рациона, препятствующие его полноценному использованию, и способствуют таким образом повышению продуктивности. При нарушении баланса в микробиоценозе кишечника не только возрастает вероятность вспышек инфекционных заболеваний, но также резко падает эффективность пристеночного пищеварения и снижается продуктивность. Следовательно, намного выгоднее профилактировать дисбиотические состояния животных при помощи микробиологических добавок [2, 5, 8, 10, 13].

**Цель работы**. Испытание лечебно-профилактической эффективности опытно-промышленной партии препарата Билавет-С.

**Материал и методика исследований**.Исследования проводились в СПК «Гродненский» Гродненского района, научно-исследовательской лаборатории, кафедрах гигиены животных, микробиологии и эпизоотологии учреждения образования «Гродненский государственный аграрный университет».

Сотрудниками лаборатории молочнокислых- и бифидобактерий ГНУ «Институт микробиологии НАН Б» на основе штамма бифидобактерий Вifidobacterium adolescentis В-01 и лактобактерий штамма Lactobacillus sp. была получена опытно-промышленная партия лиофильновысушенного пробиотического препарата Билавет-С с содержанием жизнеспособных бактерий ~1,3×1010 КОЕ/г.

С целью проверки лечебно-профилактической эффективности опытно-промышленной партии препарата Билавет-С был проведен научно-хозяйственный опыт на молодняке крупного рогатого скота в условиях СПК «Гродненский» Гродненского района.

Для опыта было отобрано 26 телят от коров черно-пестрой породы и сформировано 2 группы: контрольная – 12 голов и опытная – 14 голов. Животные контрольной группы содержались в условиях технологии, принятой в хозяйстве, и получали молозиво, а затем молоко согласно схем выпойки, телятам же опытной группы наряду с этим с 1 по 6 дни жизни перорально однократно в сутки с молозивом, а затем с молоком вводили пробиотический препарат «Билавет-С» в количестве 10 доз на одну голову (1 доза ~ 107 КОЕ) в сутки. Длительность опыта составила 10 дней. В 1 и 6 дни опыта у животных каждой группы брали для анализа кровь. За животными на протяжении всего опыта велись клинические наблюдения, а также контроль за ростом и развитием, заболеваемостью.

Использовали общие (основные) и дополнительные лабораторные методы исследований.

В цельной крови у животных определяли:

количество Т-лимфоцитов определяли реакцией спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана и В-лимфоцитов – методом розеткообразования с эритроцитами барана, нагруженных антителами и комплементом (Д.К. Новиков, В.И. Новикова, 1979).

количество гемоглобина – гемоглобинцианидным способом;

количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и гематокритную величину с помощью гематологического анализатора MEDONIC СА – 620 (Швеция).

фагоцитарную активность лейкоцитов – по методике А.И. Ивановой и Б.А. Чухловина.

Сыворотку крови получали выдерживанием крови в течение двух часов при комнатной температуре с последующим отделением свернувшейся крови от стенки пробирки стеклянной палочкой и центрифугированием в течение 10 мин при 3000 мин–1. Все биохимические показатели сыворотки крови телят определяли на биохимическом анализаторе DIАLAB Autolyzer 20010D.

Для определения содержания бифидо-и молочнокислых бактерий в кишечнике животных использовали метод накопительной культуры изолятов, метод последовательных разведений (содержимое кишечника ресуспендировали в стерильной дистиллированной воде в соотношении 1:99) с последующим высевом 5-12-го разведения на селективные питательные среды. Для определения количества молочнокислых бактерий проводили посев на плотную среду MRS-4, бифидобактерий – на полужидкую тиогликолевую среду. Культивирование микроорганизмов осуществляли в термостате в течение 72 часов при температуре 37±10C. Учет колоний микроорганизмов проводили через 24, 48, 72 часа. Биометрическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютера.

Для оценки морфологического статуса бифидо-и молочнокислых бактерий готовили постоянные препараты по стандартным методикам. Исследование микроскопических препаратов бактерий проводили с использованием прибора “БИОСКАН” (Республика Беларусь) на базе микроскопа ЛОМО МИКМЕД – 2 и цветной цифровой видеокамеры HIP – 7830 с прикладной компьютерной программой БИОСКАН 1,5 и программным приложением MS OFFICE. Морфологию нативных клеток изучали методом фазово-контрастной микроскопии на микроскопе МБИ-16 «ЛОМО» (Россия) при инструментальном увеличении 1·1000.

Биометрическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютера в программе Microsoft Excel методами вариационной статистики. Все результаты исследований в работе приведены к Международной системе единиц СИ. Определены средние арифметические каждого вариационного ряда, стандартные ошибки средней, степень вероятности нулевой гипотезы по сравнению с контролем путем вычисления критерия Стъюдента-Фишера. При Р<0,05 различия средних арифметических сравниваемых вариационных рядов считались достоверными.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Исследования показали (таблица 1), что в начале опыта концентрация общего белка у однодневных телят контрольной группы находилась в пределах нижней границы физиологической нормы, а у телят опытной группы – незначительно ниже показателей физиологической нормы, что связано, по-нашему мнению, с физиологической гипопротеинемией новорожденных телят.

Что касается белковых фракций, то концентрация альбуминов, так же как и общего белка, была ниже физиологической нормы животных и составляла в контроле 24,12 г/л, в опытной группе – 24,62 г/л, а концентрация глобулинов находилась на уровне 27,01 г/л в контроле и 25,11 г/л – в опытной группе. Низкий уровень альбуминов и глобулинов может быть свидетельством снижения активности синтеза белка и естественной резистентности организма животных.

Об интенсивности белкового метаболизма у животных можно судить по содержанию конечного продукта расхода азотистых веществ - мочевине. В начале исследований концентрация ее была на достаточно высоком уровне и составляла в контроле 6,21 ммоль/л, в опытной группе – 6,32 ммоль/л.

Активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) находилась в пределах физиологической нормы животных и составляла в контроле 59,31 ед/л, в опытной группе – 60,72 ед/л. Что касается аланинаминотрансферазы (АлАТ), то ее активность также соответствовала физиологической норме.

Концентрация холестерина у животных как контрольной, так и опытной групп была на уровне верхней границы физиологической нормы и составляла 4,92 и 4,80 ммоль/л соответственно, что указывает на нарушение липидного обмена.

К концу исследований у животных, получавших пробиотический препарат Билавет-С, концентрация общего белка составила 65,54 г/л (Р<0,05), что соответствует физиологической норме животных, в контрольной группе данный показатель находился на уровне 59,28 г/л, что может свидетельствовать о нарушении белкового метаболизма и неэффективном использовании белка как конструктивного элемента. У молодняка крупного рогатого скота, получавшего пробиотический препарат Билавет-С, уровень глобулинов был значительно выше, чем в контроле, и составлял 31,01 г/л (Р<0,01), что указывает на активизацию защитных сил организма.

Таблица 1 - Биохимические показатели сыворотки крови животных

|  |  |
| --- | --- |
| Показатели | Группа |
| Контрольная | Опытная | % к контролю |
| Начало опыта |
| Общий белок г/л | 51,53±2,81 | 50,54±2,11 | 98,3 |
| Альбумины г/л | 24,12±1,45 | 24,62±1,49 | 102,0 |
| Глобулины г/л | 27,01±1,87 | 25,11±1,73 | 92,9 |
| Са ммоль/л | 2,91±0,26 | 3,02±0,28 | 103,7 |
| Р ммоль/л | 1,99±0,14 | 2,02±0,18 | 101,5 |
| Са/Р ед | 1,46±0,13 | 1,49±0,09 | 102,0 |
| Железо мкмоль/л | 21,96±2,53 | 22,14±2,69 | 100,8 |
| Глюкоза ммоль/л | 2,69±0,19 | 2,51±0,24 | 93,3 |
| Холестерин ммоль/л | 4,92±0,48 | 4,80±0,53 | 97,5 |
| АлАТ ед/л | 21,70±1,72 | 20,92±2,46 | 96,4 |
| АсАТ ед/л | 59,31±2,92 | 60,72±3,05 | 102,3 |
| Магний ммоль/л | 1,75±0,13 | 1,87±0,15 | 106,8 |
| Мочевина ммоль/л | 6,21±0,63 | 6,32±0,72 | 101,7 |
| Конец опыта |
| Общий белок г/л | 59,28±2,90 | 65,54±3,06\* | 110,5 |
| Альбумины г/л | 37,14±2,15 | 34,41±2,23\* | 92,6 |
| Глобулины г/л | 22,37±1,21 | 31,01±1,98\*\* | 138,6 |
| Са ммоль/л | 2,12±0,58 | 2,46±0,53\* | 116,0 |
| Р ммоль/л | 1,62±0,30 | 1,86±0,28\* | 114,8 |
| Са/Р ед | 1,30±0,20 | 1,32±0,24 | 101,5 |
| Железо мкмоль/л | 22,36±2,18 | 27,19±2,12\* | 121,6 |
| Глюкоза ммоль/л | 3,02±0,26 | 3,53±0,31\* | 116,8 |
| Холестерин ммоль/л | 3,92±0,19 | 3,26±0,26\* | 83,1 |
| АлАТ ед/л | 25,69±2,23 | 27,41±2,05 | 106,6 |
| АсАТ ед/л | 61,33±3,02 | 61,23±3,40 | 99,8 |
| Магний ммоль/л | 1,73±0,12 | 2,22±0,19\*\* | 128,3 |
| Мочевина ммоль/л | 4,94±0,59 | 3,65±0,49\*\* | 73,8 |
| \* — Р<0,05; \*\* — Р<0,01 |

Необходимо отметить снижение концентрации мочевины у животных опытной группы до 3,65 ммоль/л (Р<0,01), что свидетельствует о нормализации белкового метаболизма, в контроле данный показатель был на уровне 4,94 ммоль/л.

Содержание холестерина у животных опытной группы снизилось к концу исследований до 3,26 ммоль/л (Р<0,05), в контроле – 3,923 ммоль/л, что может свидетельствовать об активизации липидного обмена.

Что касается активности аспартатаминотрансферазы (АсАТ), то у телят обеих групп она была в пределах физиологической нормы. Динамика активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) практически схожа с вышеприведенными показателями (АсАТ).

Применение пробиотического препарата Билавет-С способствовало активизации минерального обмена. Так, произошло увеличение концентрации кальция в сыворотке крови на 16,0% (Р<0,05) в сравнении с контрольной группой. Увеличилось содержание фосфора с 1,62 ммоль/л в контроле до 1,86 ммоль/л (Р<0,05) в опытной группе, а также магния с 1,73 до 2,22 ммоль/л (Р<0,01). Концентрация железа в сыворотке крови животных опытной группы была выше, чем в контроле, на 21,6% и составила 27,19 мкмоль/л (Р<0,05).

Результаты исследований показали (таблица 2), что у новорожденных телят как контрольной, так и опытной групп фагоцитарная активность лейкоцитов находилась на невысоком уровне и составляла в контроле 31,3%, опытной – 29,9%. Что касается бактерицидной активности сыворотки крови, то она колебалась в пределах 43,9 – 44,3%. К концу исследований, фагоцитарная активность лейкоцитов возросла с 33,7% в контроле до 38,5% (Р<0,05) в опытной группе, получавшей пробиотический препарат Билавет-С. Анализ гуморальных факторов защиты показал, что у телят опытной группы достоверно возросла бактерицидная активность сыворотки крови на 5,4 процентных пункта.

Таблица 2 – Показатели гуморального и клеточного иммунитета животных

|  |  |
| --- | --- |
| Группа | Показатели |
| ФАЛ,% | БАСК,% | Т-лимфоциты, 109/л | В-лимфоциты, 109/л |
| в начале опыта |
| Контроль | 31,3±1,52 | 44,3±2,12 | 3,13±0,12 | 0,33±0,01 |
| Опыт | 29,9±2,26 | 43,9±2,82 | 3,19±0,12 | 0,30±0,01 |
| в конце опыта |
| Контроль | 33,7±2,18 | 44,4±2,74 | 3,28±0,14 | 0,39±0,01 |
| Опыт | 38,5±2,82\* | 49,8±3,34\* | 3,40±0,15 | 0,45±0,02\* |

\* — Р<0,05

Литературные данные, а также собственные исследования дают возможность считать, что условно-патогенная микрофлора наиболее сильно проявляет свое патогенное действие в организме телят с низкой резистентностью. Выделяясь с каловыми массами во все возрастающем количестве, такая микрофлора постепенно накапливается в окружающей телят среде, особенно если помещение редко санируется или в нем содержатся телята разных возрастов [9, 11, 12, 14].

При накоплении во внешней среде микроорганизмов с повышенными вирулентными, токсикогенными, гемолитическими и другими патогенными свойствами у телят начинает преобладать дисбактериоз «экзогенного» происхождения, а накопившаяся в помещении микрофлора может выступать в роли местной инфекции.

Применение пробиотического препарата телятам опытной группы оказало влияние на показатели белой крови, то есть на количество лимфоцитов. К концу исследований отмечено увеличение Т-лимфоцитов у животных всех групп, но различия были недостоверными. Данный показатель увеличился с 3,28×109/л до 3,40×109/л в опытной группе. Количество В-лимфоцитов достоверно увеличилось с 0,39 контрольной группе до 0,45×109/л (Р< 0,05) в опытной. Увеличение количества Т- и В-лимфоцитов свидетельствует об активизации клеточного и гуморального иммунитета и повышении защитных сил организма.

Микроорганизмы, входящие в состав пробиотика Билавет-С, активизируя Т- и В-лимфоциты, способствовали повышению синтеза иммуноглобулинов (см. таблицу 1).

Результаты гематологических исследований показали (таблица 3), что в начале опыта у телят всех групп гематологичекие показатели значительно превышали физиологическую норму, что свидетельствует об обезвоживании организма и характеризует сгущение крови. Так, концентрация эритроцитов находилась на уровне 5,63-5,84×1012/л, лейкоцитов – 12,96-13,03×109/л, гемоглобина – 92,91-94,66 г/л.

К концу опыта гематологические показатели телят опытной группы, получавшей пробиотический препарат Билавет-С, пришли в соответствие с физиологической нормой. Так, количество эритроцитов достоверно увеличилось с 6,59 до 8,55×1012/л (Р<0,01), или на 29,7 % по сравнению с контролем. Содержание лейкоцитов увеличилось на 12,7 % (Р<0,05). Количество тромбоцитов уменьшилось с 518,75 до 490,00\*109/л, но различия были недостоверными. Концентрация гемоглобина в крови у телят опытной группы возросла на 11,7% (Р<0,05) по сравнению с контролем.

Таблица 3 – Гематологические показатели телят

|  |  |
| --- | --- |
| Группы | Показатели |
| Эритроциты,1012/л | Лейкоциты, 109/л | Тромбоциты, 109/л | Гемоглобин, г/л | Гематокрит, % |
| начало опыта |
| Контроль | 5,84±0,36 | 8,03±0,41 | 521,25±9,02 | 92,91±2,19 | 29,63±1,61 |
| Опытная  | 5,63±0,33 | 8,16±0,37 | 518,75±8,59 | 94,66±2,39 | 30,17±1,49 |
| конец опыта |
| Контроль | 6,59±0,44 | 8,73±0,38 | 519,75±9,23 | 111,5±1,92 | 32,42±1,59 |
| Опытная  | 8,55±0,43\*\* | 9,84±0,34\*\* | 490,0±10,40 | 124,58±2,13\* | 39,48±1,78\* |
| \*-P<0,05; \*\* - P<0,01  |

Что касается гематокритной величины, то она находилась на уровне 39,48%, что соответствует физиологической норме животных и выше, чем в контроле, на 7,06 процентных пункта.

Таким образом, применение пробиотического препарата Билавет-С на ранних этапах постнатального онтогенеза способствует активизации клеточного и гуморального иммунитета, окислительно-восстановительных реакций организма, повышению усвоения железа.

В СПК «Гродненский» до проведения опыта был отмечен высокий процент заболеваемости молодняка крупного рогатого скота желудочно-кишечными заболеваниями. Высокая заболеваемость негативно сказывалась и на продуктивности животных. Использование пробиотического препарата Билавет-С позволило значительно снизить количество заболевших животных и повысить их продуктивность.

Так, к концу исследований живая масса телят, получавших пробиотический препарат Билавет-С, увеличилась в сравнении с контролем на 4,3% и составила 33,5 кг, в то время как в контроле данный показатель был на уровне 32,1 кг (рисунок 1), однако достоверных различий по этому показателю не наблюдалось.

Что касается среднесуточного и относительного приростов (таблица 4), то они также были выше у животных опытной группы, получавшей пробиотический препарат Билавет-С. Так, среднесуточный прирост был выше, чем в контроле, на 36,05%, а относительный – на 2,59 процентных пункта.

****

Рисунок 1 – Живая масса телят в период опыта

Таблица 4 – Среднесуточный и относительный приросты живой массы телят в период опыта в СПК «Гродненский»

|  |  |
| --- | --- |
| Показатели | Группа |
| Контрольная | Опытная  |
| Среднесуточный прирост, кг | 0,416±0,046 | 0,566±0,052\*\* |
| Относительный прирост, % | 8,10±1,01 | 10,69±1,10\* |

\*-P<0,05; \*\* - P<0,01

Подводя итог вышесказанному, можно сделать заключение, что в результате сложных биохимических реакций, протекающих в организме животных, а также активизации окислительно-восстановительных и обменных процессов, нормализации микробиоценоза желудочно-кишечного тракта телят используемый препарат способствуют более эффективному усвоению питательных веществ корма и, как следствие, повышению массы тела животных.

Выпаивание новорожденным телятам в течение первых шести дней жизни пробиотического препарата Билавет-С с молозивом, а затем с молоком в дозе ~ 107 КОЕ/мл на одну голову в сутки способствовало снижению заболеваемости животных на 92,8% и сокращению продолжительности болезни на 3 суток. При этом в опытной группе, получавшей пробиотик, не было отмечено случаев падежа телят, в то время как в контроле одно животное пало.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабина, М.П. Коррекция иммунного статуса и повышение продуктивности цыплят-бройлеров пробиотиками // М.П. Бабина / Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: Материалы международной научно-практической конференции. - Горки, 1998. - С. 294-299.
2. Журавлев, М.Н. Пробиотические препараты в животноводстве // М.Н. Журавлев, В.Г. Сурдина / Болезни сельскохозяйственных животных вирусной и других этиологий и меры борьбы с ними: Матер. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2001. – С. 86-88.
3. Зернов, В.С. Сравнительное изучение пробиотических препаратов для телят молочного периода выращивания // В.С. Зернов, Г.Ф. Алиев, В.М. Косолапов / Науке нового века – знания молодых: Тезисы докладов 1-ой городской научной конференции аспирантов и соискателей. – Киров, 2001. – С. 59-60.
4. Золотарева, Н.А. Иммунодефициты: профилактика и борьба с ними // Н.А. Золотырева / Ветеринарная патология. – 2003. – № 2. – С. 55 – 56.
5. Карпуть, И.М. Профилактика желудочно-кишечных заболеваний у телят с использованием пробиотических препаратов //И.М. Карпуть, Л.Л. Руденко / Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: Матер. науч.-практ. конф. – Витебск, 2001. – Том. 37. - Ч. 2. – С. 44 – 46.
6. Костина, М.А. Иммунологическая реактивность у новорожденных телят // М.А. Костина / Ветеринария. – 1984. - № 8. – С. 33 – 35.
7. Малик, Н.И. Ветеринарные пробиотические препараты // Н.И. Малик, А.Н. Панин / Ветеринария. – 2001.-№1. – С. 46-51.
8. Митюшин, В.В. Диспепсии новорожденных телят // В.В. Митюшин.- 2-е изд., перераб. и доп.- М.: Росагропромиздат, 1988.- 126 с.
9. Плященко, С.И. Повышение естественной резистентности организма животных – основа профилактики болезней // С.И. Плященко / Ветеринария. – 1991. - № 6. – С. 49-52.

 10. Тараканов, Б.В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организма животных // Б.В. Тараканов / Ветеринария. – 2000. -№ 1. – С. 47 – 54.

 11. Холод, В.М. Справочник по ветеринарной биохимии / В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев. – Мн.: Ураджай, 1988. – 168 с.

 12. Collins, M.D. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut // M.D. Collins Am. J. Clin. Nutr. -1999. - V. 69. - P. 1052-1057.

 13. Fuller, R. Probiotics: prospects of use in opportunistic infections // R.Fuller / N.Y., 1995. – Р. 46 – 51.

 14. Pollman, D.S. Effect of Lactobacillus acidophilus on starter pigs fed a diet supplemented with lactose // D.S. Pollman / J. Amm. Sci. – 1980. – Vol. 51. - № 3. – P. 638-644.