

**ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКОВ НА
ЕСТЕСТВЕННУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ И ИММУНОЛОГИЧЕСКУЮ
РЕАКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Лойко И.М., Щепеткова А.Г., Свиридова А.П.*

Романова Л.В., Кузьмина О.Н., Гайдукевич Ю.В.**

**УО «Гродненский государственный аграрный университет»*

*** Институт микробиологии НАН Беларуси*

Summary. The researches a study of the influence of complex robotics of the drug for hematological and biochemical parameters of the blood of laboratory animals are conducted.

As a result of the conducted research it was established that the application of integrated robotics preparation laboratory animals activates the oxidation-reduction processes in the body, stimulates protein, carbohydrate and mineral metabolism.

Показано отсутствие антагонизма у пробиотических штаммов бактерий – основы препаратов Бацинил-К, Билавет, Энатин, ДКМ и целесообразность их комплексного использования. Изучено влияние различных комбинаций пробиотиков на гематологические и биохимические показатели крови лабораторных животных и определены их оптимальные соотношения.

В результате проведенных исследований установлено, что применение комплекса препаратов на основе спорообразующих, бифидо- и молочнокислых бактерий способствует активизации обменных процессов в организме животных, что проявляется увеличением эритроцитов (на 6,8 – 11,6%), гемоглобина(на 7,4 – 12,7%), общего белка (на 5,8-9,5%), альбуминов (на 4,1-5,2%), а также нормализации функционального состояния печени (дезаминирующей функции) и почек (способности выводить продукты азотистого обмена). Полученные данные свидетельствуют о повышении иммунобиологической реактивности организма.

Введение. Пробиотики, являясь многокомпонентными продуктами, состоящими из живых микроорганизмов и включающие в свой состав различные биологически активные вещества, синтезируемые микробными клетками в процессе их культивирования, создают наиболее благоприятный баланс желудочно-кишечной микрофлоры. Аспекты использования пробиотиков затрагивают широкий круг проблем, связанных с коррекцией кишечного биоценоза, иммунной, гормональной и ферментной систем молодняка и взрослых животных. [1, 2, 4, 6].

При анализе научно-технической и патентной литературы прослеживается тенденция создания поликомпонентных пробиотических препаратов, когда используют культуры различных представителей нормофлоры желудочно-кишечного тракта в различных сочетаниях друг с другом. [3, 5, 7]. Однако, не всегда представляется возможным объединение в одном препарате требуемых микроорганизмов. Целесообразным и актуальным является разработка системы комплексного применения пробиотиков на основе штаммов-представителей различных таксономических групп, применяемых в практике и зарекомендовавших себя в качестве эффективных лечебно-профилактических средств.

Цель исследования. Определить влияние комплексного использования пробиотиков на основе спорообразующих, бифидо- и молочнокислых бактерий на естественную резистентность и иммунологическую реактивность лабораторных животных.

Объекты и методы исследования. В качестве объектов исследования использовали пробиотические препараты на основе спорообразующих, бифидо- и молочнокислых бактерий:

- Бацинил-К (*Bacillus subtilis* БИМ В-454);
- Энатин (*Bacillus pumilus* БИМ В-263);
- ДКМ (*Lactobacillus acidophilus* БИМ В-461);
- Билавет (консорциум штаммов бактерий *Bifidobacterium adolescentis* БИМ В-375, *Bifidobacterium adolescentis* БИМ В-456 и *Lactobacillus plantarum* БИМ В-492).

Антагонистические взаимоотношения штаммов-продуцентов определяли методом совместного культивирования, перпендикулярных штрихов, бумажных дисков. Эксперименты проводили в трехкратной повторности.

Лабораторные исследования проводились на беспородных белых крысах массой 120-130 г. в возрасте 1,5 месяцев, которые были разделены на 5 групп: контрольную и четыре опытные. Животных содержали на виварном рационе, первой опытной группе выпаивали комплекс пробиотических препаратов – ДКМ, Бацинил-К, Билавет в соотношении 2:1:1 соответственно, второй опытной группе – 1:2:1, третьей – 1:1:2 и четвертой 1:1:1 орально кратностью введения один раз в сутки в течении 20 дней, дополнительно лабораторным животным опытных групп применяли пробиотический препарат (Энатин) аэрозольно 1 раз в сутки в течении всего опытного периода. Животным контрольной группы в дополнении к основному рациону задавали физиологический раствор натрия хлорида. За животными вели ежедневное наблюдение, обращая внимание на внешний вид, поведение, потребление корма, динамику массы тела,

Через 24 дня после начала эксперимента животных забивали методом декапитации и отбирали кровь для проведения гематологических и биохимических исследований.

В цельной крови у животных определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина и гематокритную величину с помощью гематологического анализатора MEDONIC SA – 620 (Швеция).

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 крыс определяли на биохимическом анализаторе DIALAB Autolyzer 20010D.

Результаты и их обсуждение Определение антагонистических взаимоотношений исследуемых бактерий – основы пробиотиков в глубинных условиях, а также методом бумажных дисков и перпендикулярных штрихов, основанное на способности продуктов метаболизма исследуемых культур диффундировать в агар и задерживать рост других клеток, показало отсутствие антагонизма. Изучаемые бактерии не подавляли рост друг друга как в условиях глубинного культивирования, так и поверхностного, что свидетельствует о целесообразности их совместного использования.

Результаты исследований влияния различных комбинаций изучаемых препаратов на биохимические показатели сыворотки крови лабораторных животных показали (табл. 1), что при использовании культур лакто-, бифидобактерий и бацилл содержание общего белка увеличилось в крови на 5,8-9,5% у животных всех опытных групп в сравнении с контролем. Количественное содержание альбуминов также возросло во всех группах на 4,1-5,2 %, при этом у животных второй и четвертой опытной группы данные изменения были достоверными (P<0,05). Содержание глобулинов выросло только у крыс 2 и 3 опытной группы по сравнению с контролем, а в первой опытной группе находилось на уровне контроля. Анализом гуморальных факторов защиты установлено, что крысы опытных групп имели более высокую бактерицидную активность сыворотки крови. Так, данный показатель у животных первой опытной группы, получавших комплекс препаратов ДКМ, Бацинил-К, Билавет в соотношении 2:1:1, увеличился до 39,53 %, во второй опытной группе – до 41,23 % (P<0,05), в третьей – до 41,02%, в четвертой – до 38,69 % (P<0,05), в то время как в контроле он был на уровне – 35,87%.

Таблица 1 – Результаты биохимического исследования сыворотки крови крыс

Показатели	Группа животных				
	Контрольная	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 опытная
Общий белок, г/л	74,56±2,76	79,34±2,76	81,64±2,56	80,06±3,16	78,88±2,90
Альбумины, г/л	36,32±1,22	37,98±2,87	38,07±2,21*	38,21±2,77	37,80±1,39*
Глобулины, г/л	39,67±2,34	39,42±2,56	43,17±3,31	44,32±3,39	38,27±2,82
БАСК, %	35,87±2,85	39,53±1,97*	41,23±2,44	40,02±2,23*	38,69±2,05
Са, ммоль/л	3,98±0,54	4,21±0,43	4,18±0,71	3,97±0,46	3,99±0,38
Р, ммоль/л	2,98±0,21	3,56±0,23	3,12±0,31	2,84±0,36	2,89±0,19
Са/Р, ед	1,19±0,09	0,96±0,07	0,84±0,05	1,24±0,11	0,98±0,11
Железо, мкмоль/л	27,56±1,76	28,75±1,54	27,82±2,06	27,33±1,72	26,87±1,97
Глюкоза, ммоль/л	3,62±0,43	4,17±0,61	4,21±0,75	4,05±0,58	3,87±0,29*
Холестерин, ммоль/л	2,36±0,16	2,21±0,19	2,07±0,16	2,12±0,14	2,14±0,20
АлАТ, ед/л	44,19±4,03	35,64±4,23	43,6±7,15	35,22±5,10	43,07±4,81
АсАТ, ед/л	8,75±0,98	12,33±0,76	9,53±1,35	8,11±1,00	8,62±1,26
Билирубин, мкмоль/л	11,23±1,16	6,28±1,99*	5,58±0,35*	4,13±0,96	6,45±1,01*
Магний, ммоль/л	1,31±0,04	1,44±0,08	1,58±0,03*	1,34±0,10	1,27±0,08
Мочевина, ммоль/л	7,74±0,64	6,92±0,34	7,54±0,45	6,89±0,46	7,31±0,65
Креатинин, мкмоль/л	66,75±4,28	67,66±2,70	69,5±1,94	65,86±3,05	67,00±3,16

* - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$

Это свидетельствует об активизации белкового обмена в организме, повышении естественной резистентности, а также активизации некоторых окислительно-восстановительных реакций организма на фоне применения бактериальных культур. Параллельно произошло снижение содержания мочевины в крови, что является свидетельством *о более эффективном использовании азота, поступающего с кормом*. Обладая токсическим действием, мочевина отравляет организм и замедляет биологические процессы, что приводит к снижению продуктивности и даже падежу животных.

Признаком того, что культуры не обладают токсическим действием на печень, является снижение уровня билирубина. Во всех опытных группах количество билирубина в крови снизилось достоверно, особенно во 2 опытной группе ($P < 0,01$), *что указывает на нормализацию функции печени и процессов переаминирования. Так же снижение уровня холестерина у животных опытных групп свидетельствует о восстановлении функциональной особенности паренхимы печени и об активизации липидного обмена*.

Для эффективного использования переваримого протеина кормов, исключительно важное значение имеют процессы переаминирования, позволяющие экономно расходовать незаменимые аминокислоты. Результаты исследований показали, что активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) в крови крыс всех групп была в пределах физиологической нормы, что также указывает на нормально протекающие обменные процессы в организме.

Введение животным бактериальных культур повысило содержание глюкозы на 6,9-16,3% по сравнению с контрольной группой, что является признаком хорошего расщепления углеводов корма. Повышенный уровень глюкозы в крови животных при использовании одинаковых кормов показывает эффективность действия бактерий, которые помогают расщеплять труднопереваримые углеводы.

Существенного влияния на минеральный обмен изучаемые бактериальные культуры не оказали. Произошло небольшое увеличение содержания кальция и железа, но не во всех группах. Количество фосфора увеличилось у крыс 2 и 3 опытных групп по сравнению с контролем. Содержание магния возросло незначительно, а у крыс 4 опытной группы снизилось по сравнению с контрольными животными.

Все изменения в сыворотке крови животных контрольной и опытных групп колебались в пределах физиологической нормы, что указывает на то, что животные во время проведения исследований были клинически здоровы.

Положительное влияние комплекса пробиотических препаратов на организм крыс подтверждается и гематологическими показателями. Так, выпаивание данных препаратов способствовало повышению (в пределах физиологической нормы) концентрации эритроцитов, особенно во второй и третьей опытных группах. Так, данный показатель достоверно увеличился у животных второй опытной группы на 11,6 %, а у животных третьей опытной группы – на 10 % (табл.2).

Таблица 2 – Гематологические показатели крыс

Показатели	Группа животных				
	Контрольная	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	7,46±2,21	8,06±1,42	8,32 ±1,44*	8,21±0,97*	7,97±0,79
Лейкоциты, $10^9/л$	12,62±0,84	11,54±0,80*	11,27±0,96	11,66±0,72*	11,80±0,98*
Тромбоциты, $10^9/л$	563,8±97,2	538,0±52,59	586,3±47,36	572,0±41,23	568,3±39,63
Гемоглобин, г/л	142,6±6,21	152,3±7,37*	147,0±2,54	148,3±6,35	150,0±7,59
Гематокрит, %	42,1±1,63	45,0±2,78	42,6±2,35	43,0±1,98	44,6±2,21
MPV, $μ\text{km}^3$	8,04±0,16	7,96±0,09	7,7±0,11	8,02±0,12	8,41±0,15
RDW, %	14,3±0,96	15,85±1,43	15,41±0,72	14,85±2,11	15,0±2,14
MCV, $μ\text{km}^3$	79,8±2,89	81,0±2,30	80,0±1,89	79,5±2,41	82,0±2,98
ЦП, ед.	1,38±0,01	1,39±0,02	1,39±0,03	1,40±0,02	1,39±0,02
MCHC, г/100 мл	25,30±1,84	27,80±1,29	28,50±0,34	26,15±2,12	27,42±1,99
СГЭ, пг	19,72±0,97	21,80±1,15	20,90±0,84	19,55±1,25	20,10±1,54

* - $P < 0,05$

Вместе с увеличением концентрации эритроцитов возрастало содержание гемоглобина в крови животных опытных групп (на 7,4 – 12,7%). *Повышение количества эритроцитов и уровня гемоглобина в крови подопытных животных при комплексном использовании пробиотических препаратов связано, на наш взгляд, со стимуляцией гемопоэтических функций организма под действием алиментарного раздражителя.*

Что касается лейкоцитов, то количество их достоверно снизилось у животных опытных групп (в пределах физиологической нормы) в сравнении с контролем, а именно на 6,5-10,7%. Данный результат может свидетельствовать об отсутствии воспалительных процессов и формировании клеточных факторов специфической защиты организма.

Концентрация тромбоцитов колебалась от $538,0 \times 10^9/л$ в первой опытной до $586,3 \times 10^9/л$ во второй опытной группе, что соответствует физиологической норме животных.

Известно, что при нарушении метаболизма и дисбактериозе гематокритное число понижается, так как происходит нарушение соотношения в крови форменных элементов и

воды, особенно в период дегидратации. Результаты исследований показали, что гематокритная величина у животных всех групп находилась в пределах физиологической нормы.

Заключение. Проведенные исследования показали, что введение лабораторным животным комплекса пробиотических препаратов способствует активизации окислительно-восстановительных процессов в организме, стимулирует белковый, углеводный и минеральный обмен, что свидетельствует о повышении иммунобиологической реактивности организма.

Список литературы

1. Алямкин, Ю. Пробиотики вместо антибиотиков это реально / Ю. Алямкин // Птицеводство. - 2005. - № 2. - С. 17-18.
2. Бакулина, Л.Ф. Пробиотики на основе спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus* и их использование в ветеринарии / Л.Ф. Бакулина, Н.Г. Перминова, И.В. Тимофеев // Биотехнология. – 2001. – № 2. – С. 48–56.
3. Малик, Н.И. Ветеринарные пробиотические препараты / Н.И. Малик, А.Н. Панин // Ветеринария. – 2001. – № 1. –С. 46–51.
4. Панин, А. Н. Пробиотики - неотъемлемый компонент рационального кормления животных / А. Н. Панин, Н. И. Малик // Ветеринария. - 2006. - № 7.-С. 3-6.
5. Тараканов, Б. В. Использование микробных препаратов и продуктов микробиологического синтеза в животноводстве / Б. В. Тараканов. М., 1987.-41 с.
6. Fuller, R. Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health / R. Fuller, G. Gibson // Clin Microbiol Infect. 1998. - № 4. - P. 477-480.
7. Stamati, S. Probiosis in sowbs by administration of *Bacillus toyoi* spores during late pregnancy and lactation: effect on their status/performance and on littercharacteristics / S. Stamati, C. Alexopoulos, A. Siochu, K. Saoulidis, S.C. Kyriakis // Int. J. Probiotics and Prebiotics. – 2006. – Vol. 1, N 1. – P. 33–40.