

## ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА СУБАЛИН НА КИШЕЧНЫЙ МИКРОБИОЦЕНОЗ МОЛОДНЯКА НОРОК

*Гашкова Ирина Владимировна м.н.с, Ираида Ивановна Окулова к.вет.наук. с.н.с., Зинаида Николаевна Бельтюкова к.вет.наук. с.н.с., Игорь Александрович Домский доктор вет.наук профессор., Юлия Анатольвна Березина- к.вет.наук с.н.с.*

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства им. проф. Б.М.Житкова Россельхозакадемии–(610000. г. Киров. ул. Преображенская, 79 Россия) mail: labvet@mail. ru*

### EFFECT OF PROBIOTICS SUBALIN ON INTESTINAL MICROBIOCENOSIS YOUNG MINK

*I.V. Gashkova, I.I. Okulova, I.A. Domsky, Z.N. Beltyukova, Y.A. Berezina, Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, 79, Transfiguration Street, 61000, Kirov, Russia E – mail: labvet@mail. ru*

*Проведены гематологические, биохимические, иммунологические, бактериологические исследования у молодняка норок под влиянием пробиотика субалин. Установлено, что биопрепарат повышает резистентность организма путем синтеза собственного интерферона и стимулирует специфические и неспецифические реакции*

*Conducted haematological, biochemical, immunological, bacteriological studies in young mink under the influence of probiotic subalin. Found that the biological product increases the body's resistance by synthesis of interferon and stimulates your own specific and nonspecific reactions.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** лактобактерии, бифидобактерии, интерферон, неспецифическая резистентность макроорганизма  
**KEYWORDS:** lactobacilli, bifidobacteria, interferon, non-specific resistance of the microorganism.

Одним из ответственных периодов в процессе выращивания пушных зверей является период отъема щенков от самок. При этом молодняк испытывает стрессовую нагрузку, снижается интенсивность роста, возникают дисбактериозы, что, в итоге, выражается существенными экономическими издержками для производства.

В связи с этим в последние годы в ветеринарной практике возрос интерес к пробиотическим добавкам, в частности, к биопрепаратам из живых микробных культур, которые используют в сочетании с различными иммуностимуляторами, противовирусными веществами и цитокинами, среди которых наиболее широко представлены препараты интерферона.

Альтернативой комплексным препаратам являются новые пробиотики, представляющие собой непосредственные модификации пробиотических штаммов путем клонирования генов противовирусных белков. Это направление в течение ряда лет широко разрабатывается в ГНЦ ВБ «Вектор», где были созданы штаммы микроорганизмов, продуцирующие цитокины. Одним из таких препаратов является пробиотик субалин, содержащий *Bacillus subtilis* 2335/pBMB 105, продуцирующий альфа 2 -интерферон (Патент РФ № 1839459). Биопрепарат наряду с иммуномодулирующим эффектом и высокой антибактериальной активностью, обладает противовирусными свойствами (Белявская В.А., 1992). Субалин отличается от антибиотиков нулевым сроком ожидания, т.е. реализацию товарной продукции можно осуществлять сразу же после курса лечения или профилактики; отсутствием привыкания, т.к. препарат не вызывает образования резистентных штаммов; безвредностью.

**Цель работы.** Изучить влияние пробиотика субалин на кишечный микробиоценоз молодняка норок.

**Материалы и методы исследований.** Исследования выполнены в лаборатории ветеринарии ГНУ Всероссийского научно-исследовательского института охотничьего хозяйства и звероводства (ГНУ ВНИИОЗ) им. проф. Б.М. Житкова Россельхозакадемии, на молодняке норок ООО звероплемзавода «Вятка» (Кировская область).

В работе использованы:

**Пробиотик.** Биопрепарат субалин, являющийся иммобилизированной высушенной споровой биомассой бактерий *Bacillus subtilis* (сенная палочка), штамм 2335/105 ВКПМ В4759, содержащий рекомбинантную плазмиду с геном интерферона  $\alpha$ -2 человека, опытно – промышленная серия (Патент РФ № 1839459). Скармливание пробиотика проводили в течение двух курсов по следующей схеме: звери опытной группы получали препарат один раз в сутки в течение 5 дней в дозе  $0,5 \cdot 10^9$  КОЕ/кг на зверя с последующим десятидневным перерывом.

**Животные:** В работе использованы 100 норок 60-дневного возраста, из которых по принципу аналогов была сформирована опытная и контрольная группы (n=20). Контрольную группу животных составили звери, получавшие стандартный рацион, без добавления пробиотика.

**Гематологические методы.** Для дальнейших лабораторных исследований у норок каждой группы на 30-е сутки эксперимента, утром до кормления брали пробы крови из хвостовой вены. Определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, гемоглобина с использованием гематологического анализатора “PCE-90 Vet” (USA). Лейкограмму подсчитывали согласно общепринятым методикам, описанным в соответствующих руководствах В.А. Берестова (1980, 2005).

**Биохимические методы.** Белковые фракции сыворотки крови определяли нефелометрическим методом по В.Я. Антонову (1971). Определение общего белка, активности печеночных ферментов (АСАТ, АЛАТ), глюкозы, щелочной фосфатазы сыворотки крови осуществляли на полуавтоматическом анализаторе «Biochim SA» с использованием соответствующих коммерческих наборов.

**Иммунологические методы.** Лизоцимную активность сыворотки крови исследовали по В.Г. Дорофейчуку (1968). Опсоно-фагоцитарную реакцию ставили по А.С. Лабинской (1978). Определение бактерицидной активности сыворотки крови проводили по методу Кузьминой Т.А. и Смирновой О.В. (1966).

**Бактериологические методы.** С целью изучения микрофлоры желудочно-кишечного тракта у зверей исследовали пробы фекалий до введения в рацион пробиотика, после первого приема, пятидневного курса и через 5 дней после отмены препарата по методике «Бактериологическая диагностика дисбактериоза» (Казань, 1989).

**Статистическая обработка** массовых цифровых материалов проводилась на персональном компьютере IBM с использованием пакета статистических программ «BioStat». Оценку достоверности статистических показателей производили по критерию Стьюдента.

**Результаты исследований.** Бактериологические исследования проб фекалий норок показали, что введение субалина в рацион норок способствует снижению в желудочно-кишечном тракте уровня стафилококков в 1,3 раза, стрептококков - в 1,4 раза, эшерихий - в 1,2 раза, анаэробных бактерий рода *Clostridium* - в 1,3 раза, а так же условно-патогенных бактерий рода *Proteus* – в 1,5 раза по сравнению с контролем. Биопрепарат также провоцирует повышение количества представителей резидентной микрофлоры: бифидобактерий – в 1,3 раза и лактобактерий – в 1,6 раза. Полная элиминация дрожжей и вытеснение из ЖКТ штамма, входящего в состав пробиотика, происходит на 5 день после отмены препарата (табл.1).

Таблица 1

**Результаты микробиологического исследования кишечной микрофлоры молодняка норки после применения Субалина (n=20)**

№ п/п	Наименование групп микроорганизмов	До применения пробиотика (Lg КОЕ/г)	Опытная группа (Lg КОЕ/г)		
			После 1 дня применения	На 5 день применения	Через 5 дней после отмены препарата
1	Staphylococcus	4,54±0,047	4,65±0,05	3,51±0,043***	3,547±0,077***
2	St.aureus	-	-	-	-
3	Streptococcus	6,39±0,061	5,39±0,085***	4,73±0,027***	4,86±0,020***
4	E.coli	5,88±0,015	5,74±0,040*	4,86±0,040***	4,69±0,052***
5	Сероводородобразующие E.coli	3,37±0,042	2,25±0,050***	1,93±0,017***	1,51±0,013***
6	Лактозонегативные E.coli	4,78±0,020	3,59±0,110***	2,82±0,020***	2,93±0,017***
7	бактерии рода Proteus	9,85±0,022	7,9±0,030***	6,72±0,027***	6,88±0,020***
8	Clostridium	3,46±0,048	3,47±0,001	2,73±0,045***	2,86±0,020***
9	Bac. subtillis	-	2,39±0,090***	4,81±0,030***	2,16±0,160***
10	Salmonella	-	-	-	-
11	Bifidobacterium	5,40±0,042	6,5±0,065***	6,93±0,025***	6,63±0,030***
12	Lactobacillus	3,59±0,037	4,39±0,085***	5,92±0,025***	5,46±0,087***
13	Дрожжи	2,73±0,020	2,39±0,09***	-	-

Примечание: P \* - <0,01; \*\* - <0,05; \*\*\* - <0,001.

Таким образом, в ходе проведенного опыта выявлено, что пробиотический препарат способствовал активному изменению кишечного микробиоценоза на пятый день применения, увеличивая количество бактерий, являющихся представителями нормофлоры.

В результате гематологических исследований у норок контрольной группы отмечено снижение уровня гемоглобина в сравнении с физиологической нормой. Введение в рацион зверей биопрепарата оказывает положительное влияние на гемопоэз, у животных опытной группы зарегистрировано достоверное увеличение в крови содержания гемоглобина в 1,3 раза по сравнению с аналогами из контроля (таблица 2).

Анализируя данные таблицы 2, у зверей опытной группы отмечено достоверное повышение, в пределах физиологической нормы, числа лейкоцитов в 1,5 раза, лимфоцитов – в 1,6 раза, сегментоядерных нейтрофилов – в 1,1 раза, моноцитов – в 2 раза и снижение количества палочкоядерных нейтрофилов в 1,3 раза по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы животных.

Таблица 2

**Гематологические показатели у норок**

Показатели:	Опытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	9,98±0,88**	6,6 ± 0,891
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	6,93±0,02***	6,216±0,04
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	4,7±0,09***	3,0±0,045
Гемоглобин, г %	137,5±4,54*	111,3±6,34

<i>Нейтрофилы, %:</i>		
палочкоядерные	4,4±0,09***	5,8±0,04
сегментоядерные	51,6±0,1***	49,7±0,02
лимфоциты	39,4±0,4**	37,6±0,6
эозинофилы	1,0±0,05***	3,3±0,02
моноциты	2,4±0,01***	1,2±0,07
базофилы	1,2±0,06***	2,4±0,04

Примечание: P \* - <0,01; \* - <0,05; \*\* - <0,001\*\*\*

В ходе иммунологических и биохимических исследований сыворотки крови отмечено положительное влияние субалина на иммунный статус норок. У зверей опытной группы по сравнению с контролем произошло достоверное повышение бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови в 1,7 раза и в 1,3 раза, при постановке опсоно-фагоцитарной реакции нейтрофилов показатель Штритера увеличился в 1,3 раза (табл. 3).

**Таблица 3**

**Иммунологические показатели сыворотки крови норок**

Показатели:	Опытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)
Бак. активность, %	37,2 ± 1,24 ***	21,6±0,94
Лизоц.активность,%	35,4 ± 1,16***	26,2±0,73
ОФР, %	16,9 ± 1,64*	12,3±0,25

Примечание: : P \* - <0,01; \*\* - <0,05; \*\*\* - <0,001

При исследовании белкового состава сыворотки крови отмечено, что у норок контрольной группы содержание  $\gamma$  - и  $\beta$ - глобулинов ниже физиологической нормы, в то же время применение биопрепарата у опытных зверей сопровождалось увеличением вышеуказанных фракций в 1,9 раза и в 1,3 раза соответственно (P<0,001) (табл. 4).

Лечебно-профилактический препарат субалин оказал положительное влияние и на функциональное состояние печени. Помимо характерных изменений белкового спектра, в сыворотке крови норок опытной группы отмечалась более низкая активность АсАТ и АлАТ (в 1,6 и 1,1 раза), щелочной фосфатазы в 3,2 раза по сравнению с соответствующими показателями в контроле (табл. 4).

**Таблица 4**

**Биохимические показатели сыворотки крови**

Показатели:	Опытная группа (n=20)	Контрольная группа(n=20)
Общий белок, г/л	88,42±1,03**	85,43±0,77
Альбумины, %	50,83±2,23*	60,02±2,15
$\alpha$ -глобулины, %	23,58±0,04***	23,03±0,07
$\beta$ -глобулины, %	9,89±0,37***	7,46±0,28
$\gamma$ -глобулины, %	15,95±0,18***	8,61±0,70
АсАТ, Е/л	110,6±3,5***	172,7±8,7
АлАТ, Е/л	88,5±1,4*	101,2±5,2
Щел.фосфатаза, Е/л	117,1±17,5***	381,4±10,9
Глюкоза, ммоль/л	4,2±0,3	4,7±0,4

Примечание: P \* - <0,01; \*\* - <0,05; \*\*\* - <0,001.

## **Выводы:**

1. Применение Субалина способствует активному формированию микробиоценоза в желудочно-кишечном тракте щенков за счет снижения концентраций условно-патогенных микроорганизмов и увеличения популяций бифидобактерий и лактобацилл;
2. Лакто и бифидобактерии активизируют пристеночное пищеварение, что приводит к нормализации всасывания железа в кишечнике и окислительно-восстановительных процессов, поэтому у животных опытной группы достоверно повысилось количество гемоглобина.
3. Под воздействием пробиотика происходит активирование лимфоцитарной системы организма норок, уменьшение содержания эозинофилов и базофилов в периферической крови.
4. Установлено, что биохимические изменения крови зверей опытной группы находились в пределах физиологической нормы и характеризовались увеличением уровня общего белка,  $\gamma$  - и  $\beta$ - глобулинов.
5. Пробиотик способствует повышению неспецифической резистентности организма молодняка норок, о чем свидетельствует возрастание бактерицидной и лизоцимной – активности сыворотки крови.
6. После применения субалина происходит снижение количества щелочной фосфатазы, восстановление уровня АсАТ и АлАТ в сыворотке крови до оптимальных значений, а следовательно, и нормализация восстановительных процессов в печени, стимуляция ее функций.

Таким образом, введение пробиотика зверям опытной группы позволяет эффективно проводить коррекцию микробиоценоза желудочно-кишечного тракта в сторону преобладания бифидо- и лактобактерий, что способствует усвоению минеральных веществ, активизации обменных процессов. Субалин повышает неспецифическую резистентность организма молодняка норок в пределах физиологических возможностей и их устойчивость к действию неблагоприятных факторов внешней среды.

## **Список литературы**

1. Антонов, В. Я. Лабораторные исследования в ветеринарии. / В. Я. Антонов, П. Н. Блинова. М. : Колос, 1971. 350 с.
2. Берестов, В. А. Клиническая биохимия пушных зверей. Петрозаводск : Карелия, 2005. 159 с.
3. Дорофейчук, В. Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом // Лабораторное дело. 1968. № 1.
4. Кузьмина Т. А. Определение бактерицидной активности крови методом фотонейфелометрии /Т.А. Кузьмина, Смирнова О.В. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.- 1966,- №4.- С. 8-11.
5. Лабинская, А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Медицина, 1978. 392 с.