

# Оптимальная дозировка препарата пробиотических лактобацилл для телят

**Е.С. Петраков**, к.б.н., ВНИИФБиП РАСХН; **Н.С. Петракова**, к.в.н., Калужский филиал РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева

В последние годы, несмотря на существенное увеличение числа зарегистрированных в РФ пробиотиков, поиск штаммов бактерий, перспективных для разработки новых пробиотических препаратов, не прекращается. При этом обращается внимание не только на традиционные требования к свойствам пробиотических микроорганизмов (антагонизм,

адгезия, стимуляция неспецифической резистентности и т.д.), но и на их способность воздействовать на обменные функции в пищеварительном тракте животных и прежде всего на гидролиз полисахаридов — крахмала, инулина, ксилана и др.

В 2009 г. в лаборатории была составлена ассоциация из четырёх штаммов лактобацилл: *Lactobacillus casei* LBB 1/90, *Lactobacillus paracasei* LBB 5/90, *Lactobacillus rhamnosus* LBB 33/90, *Lactobacillus rhamnosus* LBB 44/90, выделенных из пищевари-

тельного тракта телят, которой дали рабочее название тетралактобактерин. Входящие в препарат штаммы непатогенны, обладают широким спектром антагонистической активности против бактерий родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia* и *Salmonella*, показывают высокую адгезивность и устойчивы к ряду антибиотиков, т.е. отвечают требованиям, предъявляемым к микроорганизмам – пробиотикам.

Влияние опытной партии препарата на микробиоценоз кишечника, морфо-биохимические параметры крови и рост телят-молочников изучали ранее. Установлено, что пробиотик не оказывал неблагоприятного воздействия на морфо-биохимические параметры крови, стабилизировал микробиоценоз кишечника, стимулировал интенсивность роста животных, а ростостимулирующий эффект наблюдался на протяжении месяца после прекращения дачи препарата.

Встал вопрос, повторится ли пробиотическое действие опытной партии препарата лактобацилл при использовании более низких и высоких концентраций живых микробных тел в миллилитре культуры и какова наиболее оптимальная доза его введения в рацион телят для повышения неспецифической резистентности и продуктивности, что и определило цель исследования.

**Материалы и методы исследования.** Опыт провели в марте-апреле 2011 г. во ФГУП «Ермолино», Калужская область, в период массовых отёлов на телятах холмогорской породы. На ферме имеется родильное отделение и профилакторий для новорождённых. В 2-суточном возрасте телят переводили в индивидуальные домики, расположенные на открытом воздухе. Уход и кормление осуществляли в соответствии со схемами и требованиями, принятыми в хозяйстве. Ежедневно телята получали не менее 5 л цельного молока, на седьмые сутки начинали вводить заменитель цельного молока Кормилак, на десятые сутки и далее в рацион вводили сено, овёс и стартерный комбикорм ПК-1.

Контрольную (I гр.) и две опытные (II и III гр.) группы формировали по методу пар-аналогов по мере рождения телят [1]. В каждую группу набирали по три бычка и три тёлочки, всего по 6 гол. Для стимуляции естественных защитных сил организма новорождённым телятам II и III опытных групп выпаивали ежедневно, на протяжении первых 20 сут.

жизни, по 20 мл культуры, содержащей в среднем  $10^8$  и  $10^{10}$  колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл соответственно.

Изучение микрофлоры пищеварительного тракта осуществляли путём микробиологических исследований фекалий, которые получали при акте вынужденной дефекации. Исследовали количественное содержание в химусе сальмонелл, эшерихий, протеев, грибов рода кандиды, бифидо- и лактобактерий.

Производили отбор проб и анализ крови животных контрольной и опытных групп по общепринятым методикам [2–7].

Биохимический анализ крови проводили на автоматическом фотометре Screen Master LIND 113 (Hospitex Diagnostics) с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Диакон-ДС» (г. Пушкино).

В качестве физиологических норм брали данные, приведённые в литературе [2, 3].

**Результаты исследований.** Изучение изменений количества микроорганизмов, населяющих кишечник телят, показало, что в то время как уровень кишечной палочки и сальмонелл у молодняка всех группах различался незначительно, количество бифидобактерий и лактобацилл у телят II и III опытных гр. превышало эти показатели у животных контрольной гр. на фоне одновременного снижения популяции протеев и грибов рода кандиды (табл. 1). Причём эти тенденции сохранялись и после прекращения выпойки препарата, что позволяет косвенно судить о благополучном заселении кишечника телят данными штаммами лактобацилл.

Выпойка телятам комплекса лактобацилл *Lactobacillus casei* LBB 1/90, *Lactobacillus paracasei* LBB 5/90, *Lactobacillus paraplantarum* LBB 33/90, *Lactobacillus rhamnosus* LBB 44/90, обладающих полисахаридазной активностью, оказала благоприятное действие на животных, но при этом наблюдались различия по ряду показателей у животных опытных групп, что позволяет говорить о явной зависимости эффективности пробиотика от количества живых микробных клеток в дозе. Так, при анализе микрофлоры дистальных отделов пищеварительного тракта было установлено, что в то время как количество кишечной палочки и сальмонелл у животных всех групп находилось

1. Микрофлора кишечника телят ( $X \pm Sx$ )

Группа микроорганизмов/ период жизни	Количество микроорганизмов в 1 г содержимого					
	группа					
	I контрольная		II опытная		III опытная	
	20 сут.	30 сут.	20 сут.	30 сут.	20 сут.	30 сут.
Бифидобактерии, $\times 10^8$	14,1 $\pm$ 1,3	4,6 $\pm$ 0,6	22,2 $\pm$ 2,1*	20,5 $\pm$ 1,6*	27,3 $\pm$ 2,9*	10,3 $\pm$ 1,2*
Лактобактерии, $\times 10^8$	6,8 $\pm$ 2,9	3,6 $\pm$ 1,1	6,2 $\pm$ 0,6	6,4 $\pm$ 2,2	19,3 $\pm$ 4,9*	6,1 $\pm$ 0,6
Протей, $\times 10^2$	18,5 $\pm$ 2,7	8,6 $\pm$ 1,6	8,0 $\pm$ 0,3*	4,0 $\pm$ 0,5*	5,4 $\pm$ 0,8*	–
Кандида, $\times 10^2$	7,9 $\pm$ 1,1	20,4 $\pm$ 2,1	2,9 $\pm$ 0,4*	5,5 $\pm$ 1,3*	1,8 $\pm$ 0,3*	–

Примечание: здесь и далее \*P<0,05 по t-критерию при сравнении с контрольной группой

2. Клинический анализ крови телят ( $X \pm Sx$ )

Показатель	Группа					
	I (контрольная)		II опытная		III опытная	
	период жизни					
	20 сут.	30 сут.	20 сут.	30 сут.	20 сут.	30 сут.
Гемоглобин, г/л	106±4,8	104,6±5	97,6±5,1	97±3	106,8±3	104,2±5,5
Эритроциты, млн/мкл	5,7±0,2	6±0,3	5,8±0,3	6,1±0,1	6±0,2	5,6±0,1
Лейкоциты, тыс/мкл	10,2±1,3	11,2±0,9	10,9±1,1	9,7±0,7	12,4±0,5	10,2±1,7
Лейкоцитарная формула, %						
базофилы	2,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
эозинофилы	3,0	3,0	1,0	1,0	1,0	1,0
нейтрофилы юные	–	–	–	–	–	1
палочкоядерные	2	1	2	6	3	4
сегментоядерные	25	22	16	16	15	17
лимфоциты	64	64	74	70	74	70
моноциты	4,0	12	6	6	5	6
СОЭ, мм/час	1	1	1,2	1	1	1,2
Показатели неспецифической резистентности						
Бактерицидная активность, %	77,5	60,6	80,8	61,3	70,9	81,2*
Фагоцитарная активность, %	44,0	50,2	65,7**	71,0**	70,2**	68,5**
Содержание лизоцима, мкг/мл	12±1,2	13,2±0,4	14,4±0,5	15,2±0,8	14,8±0,4	14,4±0,5

Примечание: здесь и далее \*P<0,01, \*\*P<0,001 по t-критерию при сравнении с контрольной группой

примерно на одном уровне, количество бактерий вида *Proteus* и грибов рода *Candida* различалось. У телят II гр., получавших  $10^8$  КОЕ/мл пробиотика, их количество составляло соответственно 46 и 27% от показателей в контрольной гр., у молодняка III гр., получавшего  $10^{10}$  КОЕ/мл, их не было вообще. Количество молочнокислых микроорганизмов у аналогов опытных групп увеличилось более чем в полтора раза. Снижение количества молочнокислых микроорганизмов у телят контрольной гр., вероятно, связано с особенностями питания – снижением в рационе доли молока и ЗЦМ и повышением доли концентратов и сена. Следует отметить, что после прекращения выпойки препарата количество бифидобактерий и лактобацилл в кишечнике телят опытных групп несколько снизилось с одновременным понижением темпов роста, однако эти показатели были выше, чем в контрольной группе, что свидетельствует о стимуляции развития молочнокислой микрофлоры пищеварительного тракта под действием пробиотика.

Показатели общего анализа крови молодняка всех групп были в пределах физиологической нормы и различались незначительно (табл. 2). Биохимические показатели у животных контрольной и опытных групп находились примерно на одном уровне.

Общие клинические показатели крови находились в пределах физиологической нормы, но отмечалось повышение количества лейкоцитов у телят III гр. во время дачи препарата. После прекращения выпойки пробиотика их количество снизилось. Мы полагаем, что это обусловлено большим количеством поступающих в организм бактерий, создающих тем самым повышенную напряжённость для иммунной системы. Для борьбы с ними активизируется выработка повышенного

количества лимфоцитов. Это согласуется с данными, полученными в ранее проведённых опытах. О стимуляции иммунной системы лактобациллами свидетельствует и повышение неспецифического иммунитета у животных опытных групп. Так, фагоцитарная и бактерицидная активность у молодняка III гр. была выше, чем у аналогов контрольной, на 36 и 34% соответственно, II гр. – выше на 41 и 1%. Увеличилось содержание в сыворотке крови лизоцима.

Нормализация микрофлоры пищеварительного тракта под действием пробиотика, проявившаяся в увеличении количества лактобацилл и бифидобактерий с одновременным снижением количества грибов рода *Candida* и бактерий рода *Proteus*, а также стимуляция неспецифического иммунитета в совокупности привели к повышению интенсивности роста телят опытных групп. По-видимому, определённый эффект при этом оказала полисахаридная активность лактобацилл, входящих в состав пробиотика, улучшив переваримость таких сложных углеводов, как крахмал и инулин.

Изучение показателей продуктивности телят показало, что животные опытных групп росли интенсивнее сверстников контрольной гр. во время выпойки препарата. В то же время после прекращения дачи тетралактобактерина эта разница постепенно нивелировалась (табл. 3). Сохранность телят во всех группах составляла 100%.

Среднесуточный прирост животных II гр., получавших по 20 мл препарата с концентрацией живых микробных клеток  $10^8$  КОЕ/мл, превышал этот показатель на 22% по сравнению с контролем, а у телят III гр., получавших 20 мл препарата с концентрацией  $10^{10}$  КОЕ/мл, на 33,8% (табл. 3).

**Вывод.** Результат от выпойки телятам комплекса лактобацилл *Lactobacillus casei* LBB 1/90,

3. Показатели роста телят ( $X \pm Sx$ )

Показатель	Группа		
	I (контрольная)	II	III
Живая масса, кг:			
при постановке на опыт	30±0,4	29,8±0,7	30,3±0,8
на 20-е сут.	40,3±0,7	43,3±1,4	45,5±0,96*
на 30-е сут.	52,8±1,9	52,8±1,3	54,2±1,4
Среднесуточный прирост, г:			
на 20-е сут.	517	663*	763*
% к контролю	100	122,4	133,8
на 30-е сут.	760	759	800
% к контролю	100	99,8	105,3

*Lactobacillus paracasei* LBB 5/90, *Lactobacillus rhamnosus* LBB 33/90, *Lactobacillus rhamnosus* LBB 44/90, обладающих полисахаридазной активностью, напрямую связан с их количеством в суточной дозе. Так, при снижении количества микроорганизмов до  $10^8$  КОЕ/мл наблюдались менее значимые изменения в микрофлоре кишечника и более низкий прирост живой массы по сравнению с введением в рацион  $10^{10}$  КОЕ/мл на 1 животное. Повышение интенсивности роста телят II гр., отмеченное во время выпойки пробиотика, отсутствовало после прекращения дачи препарата, и в целом за весь

период опыта прирост живой массы у телят этой группы не отличался от прироста у контрольных животных. В то же время у молодняка III гр., получавшего наиболее высокую дозу препарата, повышение среднесуточного прироста живой массы зафиксировано также после прекращения выпойки препарата и в целом за опыт было больше этого показателя на 5% по сравнению с телятами контрольной группы. Прирост живой массы остался самым высоким в группе, получавшей наиболее высокую концентрацию лактобацилл.

**Литература**

1. Овсянников А.И. Основы опытного дела в животноводстве. М.: «Колос», 1976. С. 304.
2. Карпуть И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. Минск: Ураджай, 1986. С. 108–111.
3. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник/ под ред. проф. И.П. Кондрахина. М.: КолосС, 2004. С. 520.
4. Блинов Н.И. Микрометод определения фагоцитарной активности клеток крови // Фагоцитоз и иммунитет. М., 1983.
5. Емельяненко П.А. Сезонная динамика гуморальных факторов естественной резистентности сыворотки крови новорождённых телят // Доклады ВАСХНИЛ. 1977. № 10. С. 32–34.
6. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1980. С. 150.
7. Смирнова О.В., Кузьмина Т.А. Определение бактерицидной активности сыворотки крови методом нефелометрии // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1966. № 4. С. 8–11.