

Влияние штамма *Enterococcus faecium* ICIS 96 на факторы врождённого иммунитета птицы*

Е.Е. Кочкина, аспирантка, **И.В. Савина**, к.в.н., **Р.М. Нургалеева**, к.в.н., **Л.Г. Кислинская**, к.в.н., **М.В. Сычёва**, д.б.н., ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ

Промышленное птицеводство – это одна из интенсивно развивающихся отраслей сельского хозяйства. Высокие темпы производства мяса птицы выявили ряд проблем, одна из которых – снижение активности факторов врождённого иммунитета и появление иммунодефицитов. Иммунодефицитные состояния приводят к росту заболеваемости птицы, снижению продуктивности из-за нарушения нормального состава микрофлоры кишечника и плохого усвоения компонентов кормов и, как следствие, к снижению качества мяса. Для повышения резистентности организма птицы в последние годы в промышленном птицеводстве всё чаще применяют пробиотические препараты, обладающие широким спектром действия и обеспечивающие иммунокоррекцию [1, 2].

Широкий поиск микроорганизмов, обладающих антагонистической активностью, среди представителей молочнокислых бактерий рода *Enterococcus* позволил нам выделить и охарактеризовать культуры, обладающие уникальными свойствами, в том числе штамм *E. faecium* ICIS 96, перспективный для создания кормовой добавки пробиотической направленности [3]. Между тем биологическая активность этой культуры в условиях живого организма остаётся неизученной. Неизвестно как влияет введение штамма *E. faecium* в рацион на функциональную активность гуморальных и клеточных звеньев врождённого иммунитета птицы. Всё вышесказанное и предопределило **цель** настоящей работы.

Материал и методы исследования. Исследование проводили на цыплятах-бройлерах кросса Кобб-500, содержащихся в виварии Оренбургского государственного аграрного университета. По принципу аналогов были сформированы две группы животных по 30 голов в каждой. При формировании групп подопытных птиц и проведении научных изысканий руководствовались «Методикой проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы» [4].

Кормление птиц осуществляли сухими сбалансированными комбикормами с параметрами питательности, соответствующими рекомендуемым нормам кормления ВНИТИП. Птицы имели свободный доступ к корму и воде. Бройлеры

опытной группы помимо основного рациона ежедневно получали взвесь культуры *E. faecium* ICIS 96 в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия с концентрацией клеток $1 \cdot 10^9$ клеток/мл из расчёта 0,1 мл на 1 кг живой массы.

Для исследования из подкрыльцовой вены птицы получали пробы крови, стабилизированные гепарином. Процентное соотношение отдельных видов лейкоцитов определяли в окрашенном мазке крови методом микроскопии.

Сыворотку крови получали после ретракции кровяного сгустка. В ней определяли бактерицидную [5] и лизоцимную активности [6] фотометрическим методом. Фагоцитарную активность псевдоэозинофилов крови устанавливали по методу А.И. Иванова и Б.А. Чухловина [7].

Полученные результаты обрабатывались статистически [8].

Результаты исследования. Проведенное исследование показало, что введение в рацион цыплят-бройлеров штамма *E. faecium* ICIS 96 сопровождалось увеличением функциональной активности гуморальных факторов врождённого иммунитета.

Так, оценивая состояние интегрального показателя гуморальной защиты – бактерицидной активности сыворотки крови, можно обнаружить увеличение данного параметра у цыплят обеих групп уже с 20-х суток наблюдения. Однако на протяжении всего опыта БАС крови птиц опытной группы значительно превосходила аналогичный показатель у интактных бройлеров (рис. 1). Максимальная разница в значении анализируемого параметра была зарегистрирована на 30-е сутки эксперимента и составляла 3,6 % ($P < 0,001$).

Динамика лизоцимной активности сыворотки крови птиц изучаемых групп на протяжении всего эксперимента была сходной. Во все учётные отрезки времени ЛАС крови бройлеров опытной группы была значительно выше, чем у цыплят контрольной группы, и эта разница увеличивалась с возрастом. По данным рисунка 2 следует, что в 20 суток значения анализируемого показателя гуморальной защиты были на 17,3 % выше у бройлеров, получавших с кормом культуру *E. faecium* ICIS 96 ($P < 0,01$). Последующие наблюдения выявили увеличение разницы этого параметра у опытной и интактной птицы до 37,6 % ($P < 0,001$). Максимальных значений ЛАС крови птиц опытной группы достигала к 40-м суткам эксперимента, составив $46,9 \pm 1,03$ %, против $25,9 \pm 1,31$ % в контроле ($P < 0,001$).

* Исследование выполнено при поддержке правительства Оренбургской области в рамках гранта для финансирования инновационных проектов научных коллективов в 2019 г.

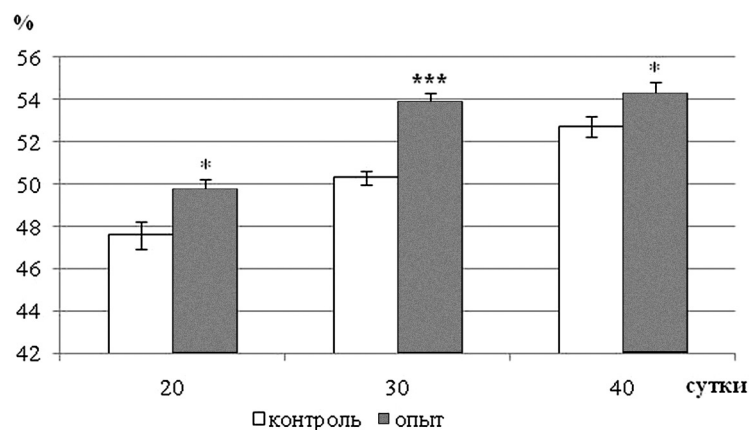


Рис. 1 – Динамика бактерицидной активности сыворотки крови у цыплят-бройлеров контрольной и опытной групп:
 достоверность различий бактерицидной активности сыворотки крови цыплят-бройлеров контрольной и опытной групп: *** $P < 0,001$; * $P < 0,05$

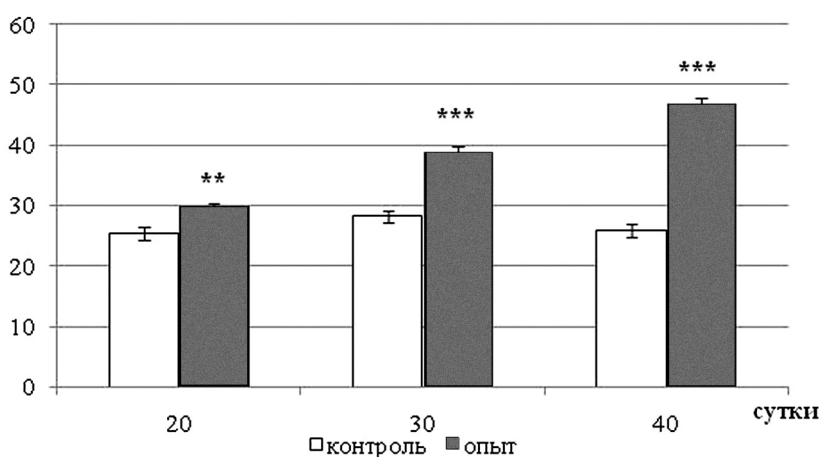


Рис. 2 – Динамика лизоцимной активности сыворотки крови у цыплят-бройлеров контрольной и опытной групп:
 достоверность различий лизоцимной активности сыворотки крови цыплят-бройлеров контрольной и опытной групп: *** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$

Динамика фагоцитарной активности лейкоцитов у птиц контрольной и опытной групп представлена на рисунке 3.

По рисунку 3 видно, что на 10-е сутки эксперимента анализируемый показатель врождённого иммунитета у цыплят, получавших культуру энтерококка, был выше, чем у интактных особей. Однако, начиная с 20-х суток наблюдения и до конца эксперимента функциональная активность клеточных факторов врождённого иммунитета была выше у особей контрольной группы. Следует отметить, что описанные изменения оказались недостоверны, т.е. были на уровне тенденций.

По мнению ряда авторов, среди клеток крови наибольшее влияние на формирование иммунного статуса птицы оказывают лимфоциты, моноциты и псевдоэозинофилы [9]. Поэтому на следующем этапе нашей работы мы оценили качественный состав белой крови у подопытных цыплят-бройлеров.

Изменение количества лимфоцитов имело волнообразный характер у птиц обеих групп и характеризовалось уменьшением рассматриваемого показателя с 10-х до 30-х суток эксперимента; к 40-м суткам наблюдения их количество увеличивалось. Содержание лимфоцитов у цыплят опытной группы на протяжении всего эксперимента было ниже, чем у интактных особей (рис. 4).

Динамика псевдоэозинофилов у подопытной птицы подчинялась тем же закономерностям, что и изменения количества лимфоцитов (рис. 5).

Начиная с 20-х суток эксперимента, количество псевдоэозинофилов постепенно уменьшалось, достигая минимальных значений у цыплят-бройлеров контрольной и опытной групп ($23,0 \pm 0,30$ и $24,0 \pm 0,51$ соответственно) к 30-м суткам наблюдения. К 40-м суткам эксперимента наметилась тенденция к увеличению рассматриваемого параметра у бройлеров обеих групп. На протяжении всего периода исследования особи, получавшие с кормом культуру энтерококка,

превосходили по анализируемому показателю птиц контрольной группы.

Динамика моноцитов имела следующие особенности. В первые три учётные отрезка времени

количество моноцитов в крови птиц обеих групп постепенно повышалось, достигая максимальных значений к 30-м суткам эксперимента (рис. 6). После чего наметился спад в содержании данного

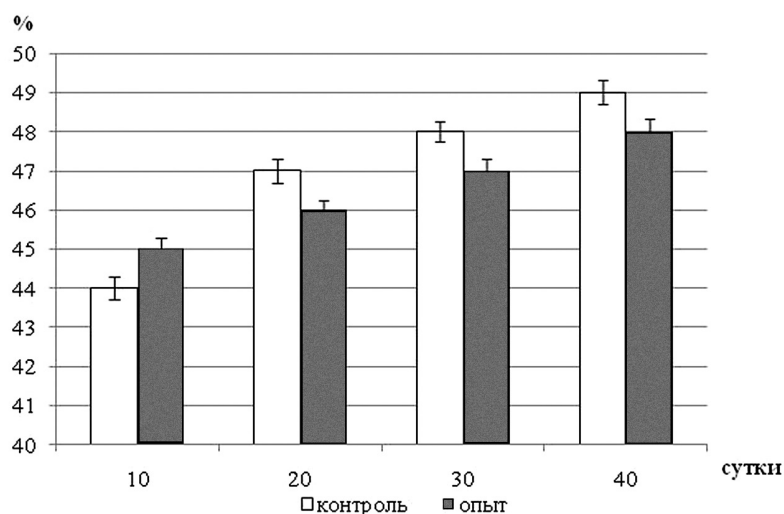


Рис. 3 – Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов цыплят-бройлеров

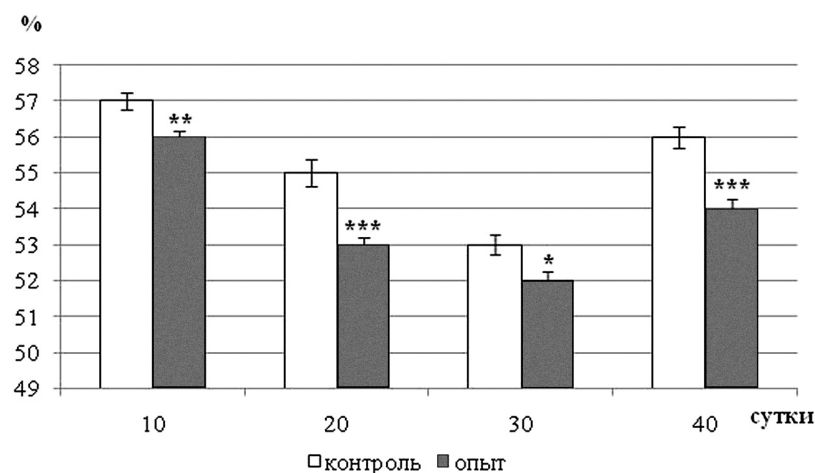


Рис. 4 – Содержание лимфоцитов у цыплят-бройлеров разных возрастных групп: достоверность различий содержания лимфоцитов у цыплят-бройлеров разных возрастных групп: *** P<0,001; ** P<0,01, * P<0,05

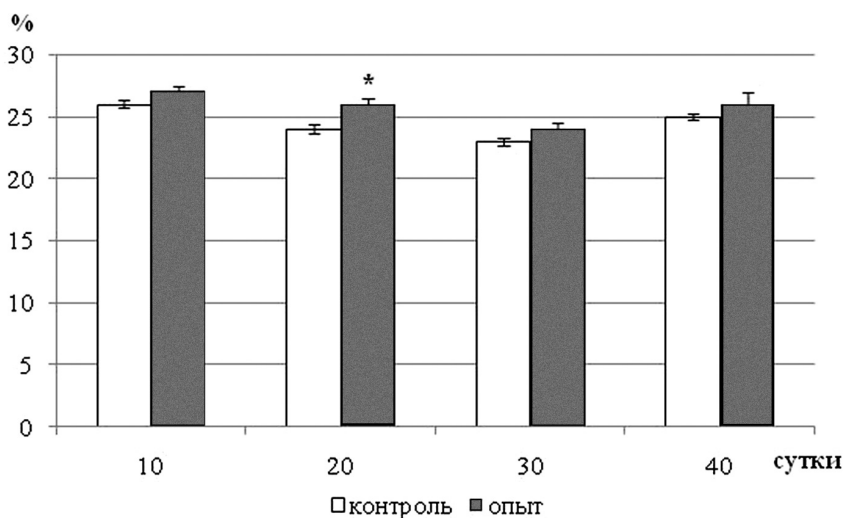


Рис. 5 – Динамика псевдоэозинофилов в крови цыплят-бройлеров разных возрастных групп: достоверность различий содержания псевдоэозинофилов в крови птицы разных возрастных групп: * P<0,05

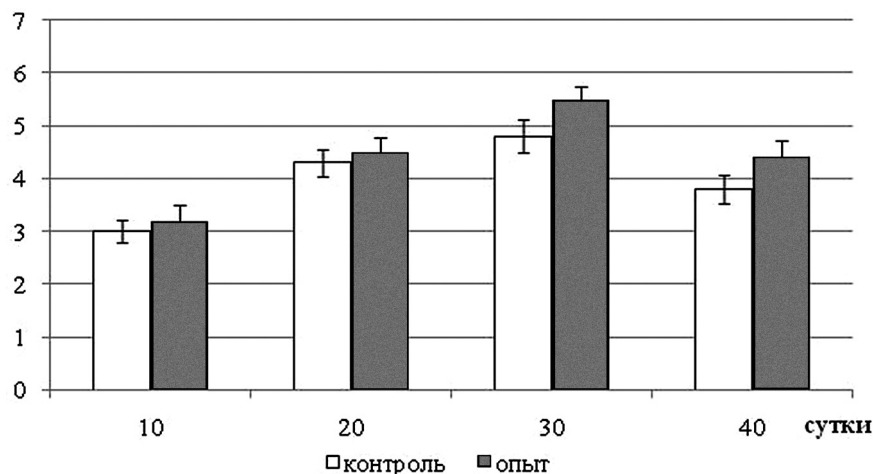


Рис. 6 – Содержание моноцитов в крови птицы разных возрастных групп

вида лейкоцитов. Однако во все учётные отрезки времени средние значения анализируемого параметра у бройлеров опытной группы оставались более высокими.

Следует отметить, что, несмотря на выявленные различия в лейкограммах особей обеих групп, все показатели были в пределах физиологической нормы.

Выводы. Введение в рацион цыплят-бройлеров культуры *E. faecium* ICIS 96 не только не оказывает на клеточные и гуморальные факторы врождённого иммунитета негативного воздействия, но и на некоторые из них влияет благотворно, стимулируя бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови, увеличивая численность моноцитов и псевдоэозинофилов.

Полученные данные открывают перспективы для дальнейшего изучения культуры *E. faecium* ICIS 96 *in vivo* с целью использования в качестве инновационного кормового продукта для сельскохозяйственной птицы.

Литература

1. Каблучеева-Пашник Т.И., Кошачев А.Г. Фармакологическое обоснование применения пробиотиков в птицеводстве. Краснодар: Изд-во КубГАУ, 2016. 270 с.
2. Моисеенко М.П., Семенченко С.В., Нефедова В.Н. Влияние пробиотиков на выращивание цыплят-бройлеров // Научно-методический электронный журнал «Концепт». 2014. Т. 26. С. 196–200.
3. Genome Sequence of *Enterococcus faecium* Strain ICIS 96 Demonstrating Intermicrobial Antagonism Associated with Bacteriocin Production / T.M. Pashkova, A.S. Vasilchenko, Y.A. Khlopko et al. // Genome Announcements. 2018. Vol. 6. No. 10. doi: 10.1128/genomeA.00126–18.
4. Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы / Ш.А. Имангулов, И.А. Егоров, Т.М. Околелова [и др.]. Сергиев Посад: ВНИТИП, 2004. 34 с.
5. Бухарин О.В., Созыкин В.Л. Фотонелометрический способ определения бактерицидной активности сыворотки крови // Факторы естественного иммунитета. Оренбург, 1972. С. 43–45.
6. Бухарин О.В. Применение таблицы для определения количества лизоцима в сыворотке крови // Вопросы неспецифического иммунитета. Оренбург, 1974. С. 162–163.
7. Иванов А.И., Чухловин Б.А. К методике определения поглощательной и переваривающей способности нейтрофилов // Лабораторное дело. 1967. № 10. С. 610–613.
8. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Гос. изд-во мед. лит., 1962. 180 с.
9. Структурные особенности иммунной системы птиц / С.Б. Селезнев, В.В. Пронин, М.С. Дюмин [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. 2016. № 3. С. 28–30.