

УДК 619:616.3+619:616-053.3

ГРНТИ 68.41.45

Остякова М.Е., д-р биол.наук, доцент, врио директора;
Желябовская Д.А. канд.биол.наук, ст.науч.сотр.;
Шульга И.С., канд.биол.наук, ведущий научный сотрудник;
Лаврушина Л.А., науч. сотр.;
Коноплев В.А., мл. науч. сотр.,
ФГБНУ ДальЗНИВИ, отдел микробиологии;
Почтарь В.А., ветеринарный врач,
г. Благовещенск, Амурская область, Россия;
E-mail: dalznividvtd@mail.ru

ОСОБЕННОСТИ ЭНТЕРОБИОЦЕНОЗА И ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПРИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

*Актуальность заболеваний органов пищеварения как одной из проблем ветеринарии определяется высокой распространенностью их в структуре патологии новорожденных телят. Применение антибактериальных средств, используемых при лечении желудочно-кишечной патологии, как правило, сопровождается селекцией антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов. В этих условиях несомненна важность комплексного подхода в изучении состояния организма животного при желудочно-кишечной патологии, которое включает как проведение бактериологических исследований биоматериала из прямой кишки, так и одновременное изучение гематологических, биохимических и иммунологических показателей крови животных. Цель – изучить основной видовой состав энтеробактерий и исследовать уровень обмена веществ и естественной резистентности новорожденных телят. Исследовали биологический материал из прямой кишки телят. Проводили гематологические, биохимические и иммунологические исследования крови. Состояние энтеробиоценоза телят до 8 суток с момента рождения находится на стадии становления, но при снижении количества облигатной микрофлоры происходит рост числа патогенных и условно-патогенных бактерий. При бактериологическом исследовании биологического материала из прямой кишки новорожденных телят в большинстве случаев была выделена *Escherichia coli* и бактерии рода *Proteus*, обладающие чувствительностью к полимиксину и энрофлоксацину. В результате исследования крови выявлено снижение иммунных показателей, что указывает на развивающиеся иммунодефицитные состояния, которые отрицательно влияют на нормальный баланс микрофлоры кишечника животных. Следовательно, важно применение комплексного подхода к исследованию и оптимизации состава энтеробиоценозов новорожденных телят, включающее проведение бактериологических исследований биологического материала из прямой кишки, с одновременным изучением гематологических, биохимических и иммунологических показателей крови новорожденных телят с последующим применением различных методов иммунореакции при профилактике и лечении желудочно-кишечных заболеваний телят.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: НОВОРОЖДЕННЫЕ ТЕЛЯТА, ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ЭНТЕРОБИОЦЕНОЗ, ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ.

UDC 619:616.3+619:616-053.3

Ostyakova M.E., Dr Biol. Sci., Acting Director;
Zhelyabovskaya D.A., Cand.Biol.Sci., Senior Researcher;
Shulga I.S., Cand.Biol.Sci., Leading Researcher;
Lavrushina L.A., Researcher;
Konoplyov V.A., Junior Researcher;
Far Eastern Zonal Research Veterinary Institute;
Pochtar V.A., Veterinary Doctor
Blagoveshhensk, Amur region, Russia
E-mail: dalznividvtd@mail.ru

ENTEROBIOTICENOSIS FEATURES AND CHARACTERISTIC OF BLOOD INDICES IN CASE OF NEWBORN CALVES' GASTROINTESTINAL DISEASES

The relevance of digestive apparatus diseases, as one of the veterinary problems, is determined by the high prevalence of neonatal pathology among young cattle. The use of antibacterial agents in the gastrointestinal disease treatment is usually accompanied by a selection of antibiotic-resistant strains of microorganisms. Under these circumstances, it is undoubtedly very important to take an integrated approach to the study of animal body condition in case of gastrointestinal diseases, which includes bacteriological studies of biological material of the rectum as well as the simultaneous study of hematological, biochemical and immunological indices of animal blood. The objective of this study is to explore the species composition of enterobacteria and investigate newborn calves' metabolism level. We studied the biological material of rectum, carried out hematological, biochemical and immunological blood tests. The condition of enterobiotocenosis of calves beginning from the date of birth up to 8 days was in the stage of formation, but when the number of obligate microflora began to decrease, the number of pathogenic and opportunistic pathogenic bacterium was growing. In the course of bacteriological examination of biological material of the rectum of newborn calves, Escherichia coli and bacteria of the genus Proteus, having sensitivity to polymyxin and enrofloxacin, were isolated (found) in the most cases. As a result, the blood tests showed a reduction of immune parameters, which indicates the developing of immune deficiencies having negative affect on the normal balance of microflora in the intestines of animals. Therefore, it is important to use an integrated approach to the study and optimization of enterobiotocenosis composition of newborn calves, which includes conducting of bacteriological studies of biological material of the rectum with further study of hematological, biochemical and immunological parameters of blood of newborn calves, followed by application of various methods of immunomodulation to prevent and treat calves' gastrointestinal diseases.

KEYWORDS: NEWBORN CALVES, GASTROINTESTINAL DISEASES, ENTEROBIOTICENOSIS, BLOOD INDICES.

Актуальность заболеваний органов пищеварения как одной из проблем ветеринарии определяется высокой распространенностью их в структуре патологии новорожденных телят [4].

Применение антибактериальных средств, используемых при лечении желудочно-кишечной патологии, как правило, сопровождается селекцией антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов

[8]. Повышение их антибиотикорезистентности, при одновременном снижении показателей естественной резистентности организма животного, способствует повышению активности персистентных свойств условно-патогенной микрофлоры кишечника. Для решения данной проблемы, в первую очередь, требуется разработка алгоритмов диагностики, профилак-

тики, иммунокоррекции и лечения заболеваний органов пищеварения, основой которых является комплексное изучение микробиологических свойств микрофлоры кишечника и показателей крови новорожденных телят. В этих условиях важен комплексный подход при изучении уровня обмена веществ и естественной резистентности, который включает бактериологические и гематологические исследования.

Цель – изучить основной видовой состав энтеробактерий и исследовать уровень обмена веществ и естественной резистентности новорожденных телят.

Материалы и методы. Исследования выполнены в отделе микробиологии ФГБНУ ДальЗНИВИ. Материал отбирали в хозяйствах Амурской области. Исследован бактериологическими методами биологический материал из прямой кишки новорожденных телят. Изучали морфологические свойства культур, выделенных из биоматериала, а так же культуральные свойства путем посева на обычные и специальные среды. Идентификацию микроорганизмов проводили с использованием «Определителя бактерий Берджи» [6].

Гематологические исследования проводили по общепринятым в ветеринарной практике методикам.

Биохимические и иммунологические исследования сыворотки крови проводили на биохимическом фотометре «Stat Fax 1904+R» с биохимическими реактивами «SPINREACT».

Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли с помощью методики цитохимического исследования лейкоцитов [7].

Статистическую обработку результатов исследований проводили по И.А. Ойвину [5].

Результаты исследований и обсуждение. При бактериологическом исследовании биологического материала из прямой кишки новорожденных телят в большинстве случаев были обнаружены грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. При этом в 100% от общего числа проб исследованного биоматериала выделена *Escherichia coli*, в 23% случаев выявлены бактерии рода *Proteus*. Данные представители микрофлоры кишечника обладали ярко выраженной чувствительностью к следующим антибиотикам: полимиксин и энрофлоксацин.

Результаты гематологических, биохимических и иммунологических исследований крови представлены в таблице.

Таблица

Результаты исследований крови молодняка крупного рогатого скота (n=9)

Показатели	Норма	M±m
1	2	3
Общий белок, г/л	50,7-67,7	67,5±3,16
Альбумины, %	38,0-50,0	51,6±3,20
Глобулины, %		
- альфа	12-20	13,2±0,73
- бета	10-16	11,6±1,04
- гамма	25-40	23,5±2,29
Мочевина, ммоль/л	4,2-6,8	3,5±0,11
Глюкоза, ммоль/л	3,2-3,6	2,2±0,34
Холестерин, ммоль/л	1,3-2,0	1,8±0,17
Триглицериды, ммоль/л	0,45-0,65	0,2±0,05
Кальций, ммоль/л	1,78-2,42	1,7±0,09
Фосфор, ммоль/л	2,7-3,2	2,7±0,12
Калий, ммоль/л	4,0-5,3	6,7±0,26
Магний, ммоль/л	1,3-1,4	0,8±0,05
Билирубин, мкмоль/л	1,7-5,1	10,7±2,69

Продолжение табл.

1	2	3
АСТ, Ед/л	45,0-110,0	54,7±3,13
АЛТ, Ед/л	6,9-35,0	21,3±4,47
Эритроциты, 10^{12} /л	5,0-7,5	6,6±0,75
Лейкоциты, 10^9 /л	4,5-12,0	4,1±0,38
Гемоглобин, г/л	99-129	87,2±6,42
Цветовой показатель	0,7-1,1	0,7±0,06
Лейкограмма, %		
- палочкоядерные	2,0-5,0	1,3±0,47
- сегментоядерные	20,0-35,0	42,1±5,14
- лимфоциты	40,0-65,0	53,0±5,47
- моноциты	2,0-7,0	3,5±0,93
ФА, %	47,6±0,83	79,8±2,59
ФИ	2,55±0,17	1,8±0,04
ФЧ	5,35±0,27	2,3±0,08
IgA, мг/дл	2,62-9,1	0,40±0,03
IgM, мг/дл	1,02-2,9	0,13±0,02
IgG, мг/дл	20,4-26,3	2,00±0,16

При исследовании белкового обмена у телят отмечали его нарушение. Общий белок повышен у телят в 45% случаев. Гиперпротеинемия может указывать на дистрофические и воспалительные процессы в печени, но уровень альбуминов у телят находился у верхних границ физиологической нормы, а у 33% превышал таковую. Увеличение альбуминов встречается очень редко и часто связано с дегидратацией организма. Низкий уровень гамма-глобулинов у новорожденных телят может быть следствием возрастных иммунодефицитов, проблема наиболее актуальна в период новорожденности и молочный период жизни молодняка.

В период новорожденности иммунодефицит связан с недостаточным или несвоевременным поступлением с молозивом защитных факторов, недостаточным количеством выпаиваемого молозива или низким качеством его (содержание иммуноглобулинов меньше 50 г/л), что наблюдается при неполноценном кормлении матерей, недостаточном усвоении иммуноглобулинов вследствие морфофункциональной незрелости новорожденных, их переохлаждении, выпаивании молозива от коров, больных маститом, или холодного. В суточном возрасте у телят, подвергнутых холодовому стрессу, уровень общих иммуноглобулинов уменьшается в 2,5 раза по сравнению с контрольной

группой. Проявляется выраженной гуморальной и, слабее, клеточной недостаточностью. На его фоне возникают заболевания с диарейным, реже септическим синдромами, которые осложняются приобретенным иммунодефицитом, развивающимся вследствие потери защитных факторов и структурно-функциональных изменений в иммунной системе [2].

В дальнейшем, на 7-14 день после рождения возрастной иммунодефицит обусловлен распадом колостральных иммуноглобулинов и незрелостью иммунной системы молодняка, поэтому синтез гуморальных антител начинается лишь с 5-10-дневного возраста, но проходит он на низком уровне. Развитие иммунодефицита начинается с резкого снижения содержания иммуноглобулинов, особенно Ig M (норма 1,02-2,9 мг/дл), затем Ig G (норма 20,4-26,3 мг/дл) и, в меньшей степени, Ig A (норма 2,62-9,10 мг/дл). У телят были снижены три класса иммуноглобулинов, составив Ig M = 0,13±0,02; Ig G = 2,00±0,16; Ig A = 0,40±0,03 мг/дл.

Вначале гуморальная иммунная недостаточность компенсируется усилением клеточных факторов защиты – в крови увеличивается количество лимфоцитов, что значительно отмечалось у 22% и умеренно у 33% телят. Фагоцитарная активность нейтрофилов была выше нормы у 100% животных, составив в среднем

79,8±2,59% (норма 47,6±0,83%). Фагоцитарный индекс был снижен и равен 1,8±0,04 (норма 2,55±0,17). Фагоцитарное число было равно 2,3±0,08 при норме 5,35±0,27. После активации клеточного иммунитета происходит достоверное снижение гуморальных и клеточных факторов защиты. Вследствие этого иммунодефицита появляются повторные желудочно-кишечные и респираторные болезни, реже септический и кожный синдромы [1].

Большое значение в развитии патологии имеют технологии кормления и содержания коров в период сухостоя, при нарушении которых телята часто рождаются с рН крови 7,15-7,20 и средним уровнем бикарбонатов в ней 17 ммоль/л. Это свидетельствует о значительном дефиците щелочного резерва.

В норме телята рождаются в состоянии респираторно-метаболического ацидоза, который является физиологическим в течение первых часов жизни и патологическим, если ацидемия продолжается более 36 часов. Характер ацидемии у телят обусловлен прежде всего особенностями метаболических процессов во время внутриутробного развития и длительностью родов (более 10 часов) [3, 5].

У телят, родившихся от коров с компенсированным или субкомпенсированным ацидозом нормализация кислотно-щелочного баланса крови требует более длительного времени. Такие животные склонны к острым желудочно-кишечным болезням в период новорожденности, так как ацидемия (рН крови 7,30-7,33 по сравнению с 7,39-7,41 у здоровых) в течение первых 36 часов жизни угнетает интенсивность всасывания иммуноглобулинов из кишечника в среднем на 23%.

У 100% телят было отмечено низкое содержание мочевины, что при диарейном синдроме указывает на нарушение всасывания белка в желудочно-кишечном тракте и снижение мочевинообразовательной функции печени. На плохое усвоение питательных веществ в желудочно-кишечном тракте указывал низкий уровень триглицеридов и глюкозы у 89% телят.

В условиях субкомпенсированного ацидоза у телят отмечали отклонения других показателей обмена веществ. Повышенный уровень билирубина (у 78% животных) отмечается при гепатите и острой токсической гепатодистрофии.

Уровень калия превышал 5,6 ммоль/л у 89% животных. Такое увеличение калия вызывается нарушением выделительной функции почек, повышенным распадом клеток, приводящим к поступлению калия во внеклеточную жидкость (при лихорадке, гнойно-септических заболеваниях, гемолитических анемиях, опухолях, некрозах, тяжелой гипоксии с ацидозом). К гиперкалиемии приводят гипофункция коры надпочечников, гипофункция ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, обезвоживание.

О сгущении крови свидетельствовал высокий уровень эритроцитов (цветовой показатель был ниже нижней границы физиологической нормы). Анемия (низкий уровень гемоглобина) подтверждала то, что питательные вещества проходят через желудочно-кишечный тракт транзитом.

Заключение. Состояние энтеробиоценоза телят до 8 суток с момента рождения находится на стадии становления, но при снижении количества облигатной микрофлоры происходит рост числа патогенных и условно-патогенных бактерий [3]. Структура кишечного микробиоценоза телят изменяется в негативную сторону в результате воздействия на организм животного различных неблагоприятных факторов, которые, в частности, влияют на механизмы общей резистентности. Энтеробиоценозы могут подвергаться самовосстановлению, но лишь в случае стабильно высокой естественной резистентности макроорганизма, в противном случае происходит возникновение клинических признаков дисбактериоза. В результате иммунологических исследований выявлено снижение иммунных показателей сыворотки крови телят, что указывает на развивающиеся иммунодефицитные состояния, которые отрицательно влияют на нормальный баланс микрофлоры кишечника животных и способствуют повыше-

нию количественного состава и активности персистентных свойств условно-патогенных микроорганизмов, заселяющих кишечник. Следовательно, важно применение комплексного подхода к исследованию и оптимизации состава энтеробиоценозов новорожденных телят, включающее проведение бактериологических исследо-

ваний биологического материала из прямой кишки, с одновременным изучением гематологических, биохимических и иммунологических показателей крови новорожденных телят с последующим применением различных методов иммунореакции при профилактике и лечении желудочно-кишечных заболеваний.

Список литературы

1. Бузлама, В.С. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма животных / В. С. Бузлама [и др.] - Воронеж : РАСХН., 1997.
2. Гимерих, В.И. К определению глутатиона крови / В.И. Гимерих // Лаб. дело. – 1967. - №9. – С. 564.
3. Куразеева, А.В. Состояние кишечного микробиоценоза телят при острых кишечных расстройствах / А.В.Куразеева, В.А. Коноплев, Л.А. Лаврушина [и др.] Вестник КрасГАУ. – 2015. - №12 (10). – С. 173-177.
4. Ломова, Ю.В. Этиологическая структура болезней органов пищеварения молодняка /Текст / Ю.В. Ломова, И.А. Кондакова, Е.М. Ленченко // Аграрная наука, 2015. - №9. – С. 28-29.
5. Ойвин, И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований / И.А. Ойвин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1960. - №4. – С. 76.
6. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / под. ред. Дж. Хоулта [и др.] – 9-е изд. – М.: Мир, 1997.
7. Сорокина, И.А. Оценка неспецифической резистентности крупного рогатого скота с помощью цитохимического исследования лейкоцитов. / И.А. Сорокина, Т.В. Кандыбина // Методические указания. – РАСХН, ДальЗНИВИ – Благовещенск, 2010. – 12 с.
8. Шахов, А.Г. Формирование кишечного микробиоценоза у телят с синдромом гипотрофии в молочный период / А.Г. Шахов [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2014. - №2. – С. 105-111.

Reference

1. Buzlama, V.S. Metodicheskoe posobie po izucheniyu protsessov perekisnogo okisleniya lipidov i sistemy antioksidantnoi zashhity organizma zhiivotnykh (Methodical Manual on Study of Processes of Lipid Peroxidation and System of Antioxidant Protection of Animal Organism), V. S. Buzlama [i dr.], Voronezh, RASKhN., 1997.
2. Gimerikh, V.I. K opredeleniyu glutationa krovi (Regarding Determination of Blood Glutathione), V.I. Gimerikh, *Lab. Delo*, 1967, No 9, P. 564.
3. Kurazeeva, A.V. Sostoyanie kischechnogo mikrobiotsenoza telyat pri ostrykh kischechnykh rasstroistvakh (State of Calves' Intestinal Microbiocenosis in Case of Acute Intestinal Disorders), A.V.Kurazeeva, V.A. Konoplev, L.A. Lavrushina [i dr.], *Vestnik KrasGAU*, 2015, No 12 (10), PP. 173-177.
4. Lomova, Yu.V. Etiologicheskaya struktura boleznei organov pishhevareniya molodnyaka (Etiological Structure of Young Animals' Digestive Apparatus Diseases), [Tekst] Yu.V. Lomova, I.A. Kondakova, E.M. Lenchenko, *Agrarnaya nauka*, 2015, No 9, PP. 28-29.
5. Oivin, I.A. Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov eksperimental'nykh issledovaniy (Statistical Processing of the Experimental Findings), I.A. Oivin, *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*, 1960, No 4, P. 76.
6. Opredelitel' bakterij Berdzhi: v 2 t. (Determinant (Identifier) of Bacteria Berdgi: 2 volumes), pod. red. Dzh. Khoulta [i dr.], 9-e izd., M.: Mir, 1997.
7. Sorokina, I.A., Kandybina, T.V. Otsenka nespetsificheskoi rezistentnosti krupnogo rogatogo skota s pomosh'yu tsitokhimicheskogo issledovaniya leukotsitov (Assessment of Nonspecific Cattle Resistance with the Help of Cytochemical Leucocyte Analysis), Metodicheskie ukazaniya, RASKhN, Dal'ZNIIV, Blagoveshhensk, 2010, 12 p.
8. Shakhov, A.G. Formirovanie kischechnogo mikrobiotsenoza u telyat s sindromom gipotrofii v molochnyi period (Formation of Intestinal Microbiocenosis in the Case of Calves Having the Hypotrophy Syndrome in Milky Period), A.G. Shakhov [i dr.], *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*, 2014, No 2, PP. 105-111.