

Влияние пробиотических лактобацилл на неспецифическую резистентность и физиологические показатели лабораторных животных

Овчарова А.Н., Софронова О.В., Полякова Л.Л.

ВНИИФБиП животных – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. Академика Л.К. Эрнста», Боровск, Калужской обл.

Резюме. Для коррекции и профилактики нарушений микрофлоры широко используются микробные препараты – пробиотики, оказывающие положительное воздействие на состав кишечной микрофлоры, иммунную систему животных. Особую роль в становлении нормальной микрофлоры играют лактобациллы. В 2009 г. в лаборатории биотехнологии микроорганизмов ВНИИФБиП была составлена ассоциация из четырех штаммов лактобацилл: *Lactobacillus casei* LBR 1/90 (ВКМ В-2780D), *Lactobacillus paracasei* LBR 5/90 (ВКМ В-2781D), *Lactobacillus rhamnosus* LBR 33/90 (ВКПМ В-11277), *Lactobacillus rhamnosus* LBR 44/90 (ВКПМ В-11278), выделенных из пищеварительного тракта телят, получившая название тетралактобактерин (ТЛБ). Входящие в состав пробиотика штаммы не патогенны, обладают широким спектром антагонистической активности против бактерий родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia* и *Salmonella*. Целью работы явилось изучение влияния тетралактобактерина на неспецифический иммунитет и физиологические показатели кроликов.

Ключевые слова: пробиотики; лактобациллы; иммунная система; кролики

Для цитирования:

Овчарова А.Н., Софронова О.В., Полякова Л.Л. Влияние пробиотических лактобацилл на неспецифическую резистентность и физиологические показатели лабораторных животных // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2019. – № 2. – С.28–31. DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10043.

Influence of probiotic lactobacilli on nonspecific resistance and physiological parameters of laboratory animals

Ovcharova AN, Safronova OV, Polyakova LL

All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of animals – branch of Federal state budgetary scientific institution "Federal Research Center Livestock – AUIAB Academician LK Ernst", Borovsk, Kaluga region, Russian Federation

Resume. For the correction and prevention of microflora disorders are widely used microbial preparations – probiotics, which have a positive effect on the composition of the intestinal microflora, the immune system of animals. Lactobacilli play a special role in the formation of normal microflora. In 2009. in the laboratory of biotechnology of microorganisms vniifbip was made Association of four strains of lactobacilli: *Lactobacillus casei* LBR 1/90 (VCM-2780D), *Lactobacillus paracasei* LBR 5/90 (VCM-2781D), *Lactobacillus rhamnosus* LBR 33/90 (VCM-11277), *Lactobacillus rhamnosus* LBR 44/90 (VCM-11278), isolated from the digestive tract of Calves, called tetralactobacterin (TLB). The strains included in probiotics are non-pathogenic and have a wide range of antagonistic activity against bacteria of the genera *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia* and *Salmonella*. The aim of this work was to study the effect of tetrasaccharide on nonspecific immunity and physiological parameters of rabbits.

Keywords: probiotics; lactobacilli; immune system; rabbits

For citations:

Ovcharova AN, Safronova OV, Polyakova LL. Influence of probiotic lactobacilli on nonspecific resistance and physiological parameters of laboratory animals. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2019;2:28–31. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2019-10043.

Введение

Для коррекции и профилактики нарушений микрофлоры широко используются микробные препараты – пробиотики, оказывающие положительное воздействие на состав кишечной микрофлоры, иммунную систему животных [1]. Установлено, что количественные изменения нормальной микрофлоры животных наступают уже в первые часы после введения пробиотических штаммов. Через две недели наблюдается подавление развития условно патогенных энтеробактерий, возрастание количества нормальной кишечной палочки, энтерококков, бифидобактерий и лактобацилл. Отмечаются изменения цитокинового профиля и морфологические изменения в органах пищеварительной (толстый отдел кишечника, печень) и иммунной (селезёнка) систем организма экспериментальных животных [2].

Особую роль в становлении нормальной микрофлоры играют лактобациллы. Они обладают выраженной антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, а также в отношении других видов и даже родственных штаммов лактобацилл [1]. Лактобациллы оказывают выраженное иммуностимулирующее и противоопухолевое воздействие. Они принимают участие в регулировании оптимальных уровней метаболических процессов, ингибируют адгезию, пенетрацию и размножение патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, обладают широким спектром антимикробных механизмов, продуцируют активные вещества белковой и небелковой природы [3]. Иммуномодулирующий эффект лактобацилл осуществляется посредством влияния на созревание и функционирование иммуннокомпетентных органов, увеличение фагоцитарной активности макрофагов и

нейтрофилов, стимуляции синтеза интерферонов и цитокинов [4, 5].

Среди биологически активных веществ, секретируемых лактобактериями, большую роль играют ферменты. Так, например, гидролазы, обеспечивают клетки низкомолекулярными продуктами распада компонентов питания, которые являются основными или дополнительными факторами роста, необходимыми для полноценного развития популяций молочнокислых бактерий и, кроме того, могут быть использованы организмом-хозяином [6].

В связи с вышеизложенным возникает необходимость разработки новых пробиотических препаратов с целью нормализации микрофлоры кишечника, повышение неспецифической резистентности организма.

В 2009 г. в лаборатории биотехнологии микроорганизмов ВНИИФБиП была составлена ассоциация из четырёх штаммов лактобацилл: *Lactobacillus casei* LBR 1/90 (ВКМ В-2780D), *Lactobacillus paracasei* LBR 5/90 (ВКМ В-2781D), *Lactobacillus rhamnosus* LBR 33/90 (ВКПМ В-11277), *Lactobacillus rhamnosus* LBR 44/90 (ВКПМ В-11278), выделенных из пищеварительного тракта телят, получившая название тетралактобактерин (ТЛБ). Входящие в состав пробиотика штаммы не патогенны, обладают широким спектром антагонистической активности против бактерий родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia* и *Salmonella*, показывают высокую адгезивность и устойчивы к ряду антибиотиков, устойчивы к неблагоприятным факторам ЖКТ, сбрасывают широкий спектр углеводов, отвечают требованиям, предъявляемым к микроорганизмам-пробиотикам [7].

Целью данной работы явилось изучение влияния тетралактобактерина на неспецифический иммунитет и физиологические показатели кроликов.

Материалы и методы

Эксперимент был проведён на кроликах калифорнийской породы. Из 3-месячных животных были сформированы две группы, опытная группа в дополнение к основному рациону (ОР) получала лиофилизированный препарат тетралактобактерин, содержащий 1×10^{10} КОЕ жизнеспособных клеток. Животные контрольной группы получали основной рацион. Препарат в количестве 30 мг на животное разводили в 1 мл дистиллированной воды и выпаивали из пипетки по 1 мл каждому кролику ежедневно в течение 21 дня, кролики контрольной группы получали дистиллированную воду в том же объёме.

Продолжительность опыта составила 1 месяц, в течение которого ежедневно осуществляли контроль за общим состоянием животных, в начале и конце опыта проводили взвешивание и учитывали потребление кормов.

Скармливание молодняку кроликов на протяжении 1 месяца препарата тетралактобактерин не оказало неблагоприятного воздействия на функционирование у

них пищеварительной, сердечно-сосудистой и мочеполовой систем. Заболеваний и гибели животных во всех группах отмечено не было.

Гематологические исследования показали, что основные параметры крови животных контрольной и опытной групп после трёхнедельного получения препаратов находились в пределах физиологической нормы. Количество эритроцитов в крови животных опытной группы было ниже, чем в контрольной, однако содержание гемоглобина было одинаковым. В лейкоцитарной формуле у кроликов опытной и контрольной групп существенных различий не наблюдалось, все параметры находились в пределах физиологической нормы.

Результаты и обсуждения

Наблюдалась стимуляция неспецифического иммунитета. У крольчат опытной группы в сравнении с контролем фагоцитарная активность достоверно ($p < 0,01$) возрастала — 69,4 против 47,1 % — в контрольной группе. Бактерицидная активность достоверно возрастала ($p < 0,01$) у кроликов, получавших ТЛБ, — 69,4 % против 37,8 % — в контроле.

Содержание лизоцима в сыворотке крови (табл. 1) животных как контрольной, так и опытной групп практически не изменялось.

При исследовании мочи у кроликов всех групп в ней не было обнаружено сахара и крови, но как у контрольных, так и у опытных животных моча содержала небольшие количества белка. Моча имела жёлтый цвет

Таблица 1

Гематологические показатели и показатели неспецифической резистентности крови кроликов

Показатели	Опыт	Контроль
Гемоглобин, г/л	127,25±3,12	127,00±1,78
Количество лейкоцитов, тыс./мкл	6,80±0,14	7,84±0,53
Количество эритроцитов, млн/мкл	7,41±0,22*	8,53±0,32
Базофилы	1,6	1,1
Эозинофилы	1,5	1,8
Псевдоэозинофилы:		
юные	—	—
палочкоядерные	0,8	0,3
сегментоядерные	13,5	13,6
Лимфоциты	80,5	81,0
Моноциты	2,1	2,2
Фагоцитарная активность, %	69,4±3,69**	47,1±1,29
Фагоцитарный индекс	5,06±0,16*	3,93±0,15
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	56,4±2,09**	37,8±3,2
Лизоцимная активность сыворотки крови, мкг/мкл	45,7±0,64	43,9±0,98
Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.		

в обеих группах, рН в контрольной группе — 8,0, в опытной группе — 8,5, эти параметры свидетельствуют о нормальной функции мочевой системы как у контрольных, так и у животных, получавших препарат.

Патологоанатомические исследования внутренних органов кроликов

При проведении послеубойного осмотра тушек и внутренних органов кроликов в них не было обнаружено видимых патологических изменений (табл. 2).

Лёгкие — упругие, трахея и бронхи — чистые, отёчности, абсцессов и кровоизлияний нет. Масса сердца у кроликов опытной группы достоверно больше, чем у животных контрольной группы, перикард, эпикард и эндокард — без инфильтратов и кровоизлияний.

Таблица 2

Масса внутренних органов кроликов (М+м, n = 4)

Показатели	Группы животных	
	Опыт	Контроль
Сердце, г	8,33±0,45**	6,46±0,40
Лёгкие, г	12,53±0,49	11,78±0,89
Печень, г	92,83±10,61	76,9±4,39
Почки, г	19,23±1,43*	14,96±0,63
Селезёнка, г	1,45±0,09	1,33±0,17

Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

Печень и селезёнка: края острые, паренхима вишневого цвета, очагов некроза и абсцессов нет. Желчный пузырь — в норме.

Серозные оболочки желудка, тонкого и толстого отделов кишечника — гладкие и блестящие. Слизистые оболочки — серовато-розовые, без геморагий и очагов воспаления.

Почки у кроликов опытных групп достоверно увеличены ($p < 0,01$) по сравнению с контролем, но не имеют признаков воспаления и кровоизлияний. Для установления причины этого явления необходимо проведение морфологического исследования.

Таблица 3

Биохимические показатели крови кроликов (М+м, n = 4)

Показатели	Группы животных	
	Опыт	Контроль
Альбумин, г/л	41,04±2,21	35,91±4,01
Общий белок, г/л	67,40±2,78*	59,90±5,14
Мочевина, ммоль/л	7,86±0,78	9,31±0,51
Креатинин, мкмоль/л	155,87±7,14	164,66±6,03
Глюкоза, моль/л	10,67±1,11	10,28±1,12

Примечание: * — $p < 0,05$

Биохимические исследования сыворотки крови кроликов

В сыворотке крови подопытных животных были определены общий белок, альбумин, креатинин, мочевина и глюкоза (табл. 3).

По количеству общего белка в сыворотке крови кроликов всех групп наблюдалось соответствие физиологическим нормам [8]. Количество альбумина варьировало в пределах физиологической нормы, которая составляет в сыворотке крови кроликов от 37,9 до 50,6 г/л.

Из углеводов основным источником энергии в организме является глюкоза. Физиологическая норма у кроликов — 4,16–5,27 ммоль/л. У подопытных животных содержание глюкозы было выше физиологической нормы, по-видимому, это связано с присутствием в рационе значительного количества сена, как источника труднопереваримых углеводов.

Показатели креатинина мало отличались у кроликов опытных и контрольной групп. Показатели мочевины были достоверно ниже во 2- и 3-й опытных группах по сравнению с контролем.

Заключение

Таким образом, применение пробиотических препаратов на основе лактобацилл оказывает значительное влияние на факторы неспецифической резистентности лабораторных животных.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Овчарова Анастасия Никитовна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: naka7@yandex.ru

SPIN код: 2377-8689

к. б. н., с. н. с., лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии ВНИИФБиП ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им Л.К. Эрнста, Боровск Калужская обл.

Ovcharova Anastasia

Corresponding author

e-mail: naka7@yandex.ru

SPIN code: 2377-8689

senior researcher, candidate of biological Sciences, VNIIFBiP of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, Borovsk, Kaluga region

Софронова Ольга Владимировна

SPIN-код: 8603-7034

н. с., к. т. н., ВНИИФБиП ФГБНУ ФНЦ ВИЖ
им Л.К. Эрнста, Боровск Калужская обл.

Safronova Olga

SPIN code: 8603-7034

researcher, candidate of technical sciences,
VNIIFBiP of the L.K. Ernst Federal Science Center
for Animal Husbandry, Borovsk, Kaluga region

Полякова Людмила Леонидовна

SPIN-код: 5853-4527

м. н. с. иммунобиотехнологии и
микробиологии, ВНИИФБиП ФГБНУ
ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Боровск,
Калужская обл.

Polyakova Lyudmila

SPIN code: 5853-4527

junior researcher of Immunobiotechnology and
Microbiology, VNIIFBiP of the L.K. Ernst Federal
Science Center for Animal Husbandry, Borovsk,
Kaluga region

Литература / References

1. Глушанова Н.А. Биологические свойства лактобацилл // *Бюллетень сибирской медицины*. — 2003. — № 4. — С. 50–58. [Glushanova NA. Biologicheskie svoystva laktobacill. Byulleten' sibirskoy mediciny. 2003;4:50–58. (In Russ).]
2. Козловский Ю.Е., Хомякова Т.И., Козловская Г.В., и др. Некоторые аспекты взаимодействия пробиотических бактерий с организмом экспериментальных животных // *Кролиководство и звероводство*. — 2018. — № 1. — С. 28–32. [Kozlovskiy YuE, Homyakova TI, Kozlovskaya GV, et al. Nekotorye aspekty vzaimodeystviya probioticheskikh bakterij s organizmom eksperimental'nyh zhivotnyh. *Krolikovodstvo i zverovodstvo*. 2018;1:28–32. (In Russ).]
3. Бондаренко В.М., Чупринина Р.П., Аладышева Ж.И., Мацулевич Т.В. Пробиотики и механизмы их терапевтического эффекта // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. — 2004. — № 3. — С. 83–87. [Bondarenko VM, Chuprinina RP, Aladysheva ZHI, Maculevich TV. Probiotiki i mekhanizmy ih terapevticheskogo effekta. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2004;3:83–87. (In Russ).]
4. Тераевич А.С., Закрепина Е.Н. Влияние пробиотиков на клеточный и гуморальный иммунитет // *Электронный научный журнал*. — 2016. — Т. 10. — № 7. — С. 23–27. [Teraevich AS, Zakrepina EN. Vliyanie probiotikov na kletochnyj i gumoral'nyj immunitet. *Elektronnyj nauchnyj zhurnal*. 2016;7(10):23–27. (In Russ).]
5. Галочкин В.А., Остренко К.С., Галочкина В.П. Взаимосвязь нервной, иммунной, эндокринной систем и факторов питания в регуляции резистентности и продуктивности животных // *Сельскохозяйственная биология*. — 2018. — № 4. — С. 673–686. [Galochkin VA, Ostrenko KS, Galochkina VP. Vzaimosvyaz' nervnoj, immunnoy, endokrinnoy sistem i faktorov pitaniya v regulyacii rezistentnosti i produktivnosti zhivotnyh. *Sel'skhozvaystvennaya biologiya*. 2018;4:673–686. (In Russ).]
6. Рябая Н.Е., Самарцев А.А. Ферментативная активность бифидо- и лактобактерий, входящих в состав пробиотиков. Материалы Междунар. науч.- практ. конф. 25–28 мая 2005 г., Минск-Нарочь / Сост. и общ. ред. А.Н. Евтушенкова. — Мн.: РИВШ, — 2005. — С. 218–219. [Ryabaya NE, Samarcev AA. Fermentativnaya aktivnost' bifido- i laktobakterij, vkhodyashchih v sostav probiotikov. Materialy Mezhdunar. nauch.- prakt. konf. 25–28 maya 2005 g., Minsk-Naroch' / Sost. i obshch. red. A.N. Evtushenkova. — Mн.: RIVSH, 2005.s.218–219. (In Russ).]
7. Зинченко Е.В., Панин А.Н., Панин В.А. Практические аспекты применения пробиотиков // *Ветеринарный консультант*. — 2003. — № 3. — С. 12–14. [Zinchenko EV, Panin AN, Panin VA. Prakticheskie aspekty primeneniya probiotikov. *Veterinarnyj konsul'tant*. 2003;3:12–14. (In Russ).]
8. Ефремов А.П., Мартынов П.Н. Интерьерные различия крольчат разного возраста fundamental research. ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина». — 2012. — № 5. [Efremov AP, Martynov PN. Inter'ernye razlichiya krol'chat raznogo vozrasta fundamental research. FGBOU VPO «Omskij gosudarstvennyj agrarnyj universitet imeni P.A. Stolypina». 2012;5 (In Russ).]