

Количество и качество лактобацилл в кишечнике бройлеров при скормливании им пробиотиков с антитоксическим эффектом

Сергей Юрьевич Гулюшин

ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»
Российской академии наук

Аннотация: Результаты исследования, проведенного в лаборатории микотоксикологии, выявили нисходящие динамики снижения содержания лактобактерий в кишечнике птицы в зависимости от уменьшающейся продолжительности скормливания пробиотика. Чем дольше по времени был период его использования в ранние сроки, тем выше остаточное количество активных форм к концу опыта. Большое значение в формировании тенденции снижения содержания лактобактерий в кишечнике имела и доза пробиотика – чем она выше, тем менее заметен спад со временем. В случае с дозой 10^7 КОЕ/г наиболее эффективен постоянный режим применения пробиотика или периодичность 6-7 дней с интервалом в 1 день. Использование высоких доз (10^8 КОЕ/г) пробиотика для надежной защиты можно рекомендовать в равно-пропорциональных циклах: 7×7, 6×6 и т.д. дней, удобных для того или иного хозяйства.

Ключевые слова: микотоксины, пробиотические препараты, лактобациллы, адгезия, кишечник, бройлеры.

Для цитирования: Гулюшин, С.Ю. Количество и качество лактобацилл в кишечнике бройлеров при скормливании им пробиотиков с антитоксическим эффектом / С.Ю. Гулюшин // Птицеводство. – 2022. – №12. – С. 26-30.

doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-12-26-30

Введение. Актуальной проблемой современности, наносящей ощутимый урон птицеводству, по-прежнему остаются микотоксины. Борьба с ними продолжается на разных фронтах и направлениях. Так, используя в коррекционных целях те или иные группы биологически активных веществ, представляется возможным снизить пагубный эффект микотоксинов при условии, что применение препарата будет физиологически адекватно контрсиле негативного воздействия этих ксенобиотиков [1-3].

Полезные свойства пробиотиков, используемых в виде специализированных микроорганизмов, находят все большее применение в практике птицеводства. Их действие, в числе прочих эффектов, направлено на внесение в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) биодеструкторов микоток-

синов, благодаря чему снижается негативная нагрузка на организм. Выявлена способность некоторых форм лактобацилл направленно «разрушать» токсины, доказана возможность существенного усиления этих свойств благодаря приемам накопительной селекции, причем новые штаммы по силе антитоксического эффекта превосходят большинство применяемых добавок, оказывая общее оздоравливающее действие на макроорганизм. Таким образом, «сильные» бактерии и их обоснованный уровень ввода в корма – перспективный путь решения проблемы в целом [4,5].

Вместе с тем, говоря о «силе» пробиотика, нужно помнить, что в случае с микрофлорой имеется несколько нюансов, среди которых – их способность приживаться в пищеварительном тракте. Адге-

зия, или прикрепление к слизистой кишечника – важное свойство симбиотической микрофлоры, исключаящее транзитный вынос симбионтов. Оно может меняться в зависимости от различных условий окружающей среды. Серьезные предпосылки для изучения данного вопроса создаются тем, что новые штаммы, длительное время культивировавшиеся в жестких условиях агрессивных сред для закрепления эффекта биодеградации микотоксинов, могут утратить эти качества, снизив, тем самым, свои конкурентные преимущества в микробиоте кишечника. Факторы среды – разные температурные условия, кислотность, наличие конкурентов в биотопе – лишь усугубляют ситуацию. Приспособление к новым условиям обитания (из пробирки в кишечник) может помешать адапта-



Таблица 1. Содержание микрофлоры в толстом кишечнике в зависимости от режима применения биопрепаратов-деструкторов микотоксинов на фоне условно-чистых комбикормов (сентябрь 2022 г.)

Параметры	Группы				
	ввод препарата на уровне 10 ⁷ КОЕ/г				
	1 (К-0)	2 (К) (14×0)	3 (10×4)	4 (7×7)	5 (4×10)
Общее кол-во лактобацилл, КОЕ/г	1,51×10 ⁷	7,93×10 ⁷	3,73×10 ⁷	2,90×10 ⁷	1,81×10 ⁷
- к контролю 1, раз	---	+5,25	+2,47	+1,92	+1,20
- к контролю 2, раз	---	---	-2,12.	-2,73	-4,37
«Сильные» лактобациллы, КОЕ/г		5,89×10 ⁷	2,69×10 ⁷	8,73×10 ⁶	2,09×10 ⁶
- к контролю 1, %		74,3	72,1	30,1	11,6
- к контролю 2, раз		---	-2,19	-6,75	-28,2
	ввод препарата на уровне 10 ⁸ КОЕ/г				
	1 (К-0)	6 (К) (14×0)	7 (10×4)	8 (7×7)	9 (4×10)
Общее кол-во лактобацилл, КОЕ/г	1,51 10 ⁷	1,41×10 ⁸	1,35×10 ⁸	1,04×10 ⁸	4,82×10 ⁷
- к контролю 1, раз		+9,34	+8,93	+6,89	+3,19
- к контролю 6, раз		---	-1,04	-1,36	-2,92
«Сильные» лактобациллы, КОЕ/г		1,16×10 ⁸	9,60×10 ⁷	5,89×10 ⁷	1,34×10 ⁷
- к контролю 1, %		82,2	71,1	56,4	27,8
- к контролю 6, раз		---	-1,21	-1,97	-8,65

ции бактерий. В случае частичной утраты адгезии эти формы массово эвакуируются из пищеварительного тракта и замещаются аборигенными бактериями, не способными купировать токсический процесс, или, того хуже – условными патогенами. Другими словами, при использовании антитоксических биопрепаратов на фоне недоброкачественных комбикормов их эффективность может оказаться невысокой, несмотря на изначально высокий потенциал детоксикации.

Таким образом, рассматривая данную проблему в комплексе, нами была проведена научная работа, имеющая целью изучить способность молочнокислых бактерий с повышенной устойчивостью к микотоксинам закрепляться на стенке кишечника при скормливании птице в виде пробиотических препаратов в разных дозах и режимах на фоне условно-чистых рационов.

Материал и методика исследований. В условиях вивария СГЦ «Загорское ЭПХ» – филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН был проведен опыт на цыплятах-бройлерах.

Птица в 1-й контрольной группе получала обычный комбикорм.

Бройлерам из 2-го контроля использовали рацион с постоянным включением пробиотика из «активных» лактобацилл на уровне 10⁷ КОЕ/г на протяжении всех 14 дней эксперимента. Цыплятам из опытных групп 3, 4 и 5 скормливали аналогичный корм, но лишь в первые 4, 7 и 10 дней, а в заключительный период (10, 7 и 4 дней соответственно группам) применяли обычный рацион первого контроля (без пробиотика). Таким образом, в опытных группах был симитирован прерывистый режим применения биопрепарата.

По завершении опыта был проведен индивидуальный убой бройлеров, получено содержимое толстого кишечника, где определяли количество полостных и пристеночных форм лактобацилл, а также проведена их дифференцировка по степени активности, используя в качестве биомаркеров окислительные ферменты, тесно коррелирующие с биодеградацией микотоксинов.

Для изучения возможности усиления адгезии лактобацилл была предусмотрена вторая часть опыта (группы 6-9), сформированная по аналогии с первым исследо-

ванием. Здесь уровень ввода молочнокислых симбионтов в корме увеличивали в 10 раз – до 10⁸ КОЕ/г, а аналогичные количественные и качественные параметры микробной заселенности ЖКТ легли в основу оценки эффективности такого технического приема. При соотнесении между собой всех учитываемых параметров в первой и второй части эксперимента были определены эффективные режимы применения биопрепарата при конкретной его дозировке, когда достигался бы стабильный биологический эффект при умеренных затратах на препарат.

Результаты исследований и их обсуждение. Постоянный ввод лактобацилл в корма способствовал достоверному увеличению их уровня в кишечнике бройлеров в 5,2 и 9,3 раза (табл. 1). Однако, сопоставляя группы 2 и 6, десятикратно разнящиеся по дозе препарата, аналогичного (10-кратного) превосходства их содержания в ЖКТ не отмечалось: преимущество группы 6 (10⁸ КОЕ/г) против сверстников из контроля 2 (10⁷ КОЕ/г) было всего порядка 1,8-2,4 раза. Таким образом, как бы мы ни увеличивали ввод





препарата в корм, ничего, кроме увеличения стоимости рациона, это не дает. Практический опыт говорит, что рациональными здесь будут низкие дозы биодобавок, но с сильным эффектом адгезии, сводящим к минимуму вынос симбионтов или их подавление конкурентами. Другими словами, ориентироваться всегда нужно на качественные параметры микроорганизмов, используя данный тест с простым 10-кратным увеличением их содержания в корме (и учетом в кишечнике), как критерий адекватности того или иного пробиотического препарата тому или иному виду животных.

Дальнейший анализ материала сводился к выявлению оптимального режима применения биодобавки. Итак, общее количество *Lactobacillus*, возросшее в контрольной группе 2 в 5,2 раза как результат постоянного применения пробиотика, в группе 3, где тот же самый препарат скармливался только в течение первых 10 дней, оказалось выше по сравнению с контролем, но лишь в 2,5 раза. Другими словами, если «пропустить» использование биопрепарата в последние 4 дня (10×4), его эффективность снизится в 2,1 раза по сравнению с постоянным режимом (14×0). Далее нисходящая динамика только усугублялась: при вводе 7×7, результативность падает в 2,7 раза, а в последующем (группа 5) – в 4,4 раза. То есть, скармливание пробиотика в начале и отмена его в дальнейшем (4×10) полностью нивелируют позитивный эффект в 2-недельной перспективе. Значения бактериальной обсемененности здесь практически сравнивались с базисом отрицательного контроля (группы 1), едва превосходя его в пределах статистической погрешности.

Таким образом, целесообразность использования данных штам-

мов лактобацилл будет более выражена при постоянном режиме применения или периодичности 6-7 дней с интервалом в 1 день, что не всегда удобно в технологическом плане. Подчеркнем, это заключение относится к дозе 10^7 КОЕ/г.

Имитируя аналогичную периодичность, далее в этом же ключе изучили увеличенную дозу (10^8 КОЕ/г) препарата.

Так, возросший в 9,3 раза уровень лактобацилл в содержимом толстого кишечника при постоянном вводе практически не снижался и в группе 7 на фоне ограничения его использования в заключительные 4 дня 2-недельного периода опыта. Пролонгированное действие было отмечено в группе 8 (режим 7×7), где снижение составило чуть более 30%. Однако далее следовал резкий спад (в 3 раза), указывающий, что разовое применение препаратов на начальных этапах откорма без последующего его использования (группа 9) так же неэффективно, как и в первом исследовании (группа 5). Для стабилизации эффекта высоких доз показано повторение профилактических процедур, хотя периодичность здесь можно снизить на 50% – до равно-пропорциональных циклов: 7×7, 6×6 и т.д. дней, удобных для того или иного хозяйства.

Продолжая анализ, отметим, что все вышеизложенное относится к обширной группе лактобацилл, селективно выращенных на питательных средах без начальной их дифференцировки. Вполне очевидно, что в представленной совокупности были как «сильные» бактерии-деструкторы, экспортируемые в организм самим препаратом, так и банальные лактобациллы, чей рост неспецифически стимулирован вводом пробиотика. Детальное же раскрытие темы данного научного сообщения требует ответа на вопрос: какова же судьба конкретно

«наших» – активных лактобацилл? Отвечая на него, мы дополнительно протестировали биомаркеры активности, ответственные за биодеструкцию живой клеткой тех или иных ксенобиотиков, и на основании этого условно рассчитали количество активных форм.

В контрольной группе 2 (10^7 КОЕ/г), получавшей препарат постоянно, доля активных штаммов составила не менее 74,3% от общего количества лактобацилл. Это неудивительно, принимая во внимание, что сам пробиотик на 100% состоял из этих форм, а в содержимом кишечника были следы недавно потребленного корма. Далее (10×4) отмечалось падение в 2 раза, практически соразмерное с общим снижением микрофлоры данного рода. Однако регресс резко усилился в группе 4 – в 6,8 раз (против 2,7 раза) и особенно в группе 5 – в 28,2 раза (против 4,4 раз). Другими словами, при скармливании препарата в течение первых 4 дней на 14 сутки в биоценозе кишечника насчитывалось не более 11,0% активных форм от общего (и так сниженного) количества лактобацилл, то есть фактически оставались лишь их следы!

Во второй части эксперимента в группе 6 также доминировали бактерии пробиотика (82,2%), но нисходящая их динамика была более сдержанной: в 1,2; 2,0 и 8,7 раз соответственно, в отличие от низкой дозы препарата. Самой критичной также оказалась последняя группа 9 (режим 10×4), в остальных случаях снижение шло с замедлением и сполна компенсировалось высокой дозой (10^8 КОЕ/г) используемого биодеструктора.

Таким образом, в обоих опытах была выявлена нисходящая динамика снижения общего содержания лактобактерий в зависимости от сокращающейся продолжительности скармливания пробиотика. То есть,



чем короче по времени был период начального использования препарата, тем ниже было остаточное количество молочнокислых форм к концу опыта, в т.ч. отвечающих за деструкцию микотоксинов.

Доза пробиотика имеет большое значение в формировании динамики снижения бактериальной заселенности в кишечнике – чем она выше, тем менее заметен спад со временем. Однако «игры» с дозами хороши лишь в условиях эксперимента. На практике же абсолютное потребление микробных клеток 1 головой при высоких уровнях ввода препарата (10^8 КОЕ/г) даже в дробном варианте будет в ~5 раз выше, чем при постоянном скармливании более низких доз (10^7 КОЕ/г). Здесь возрастающие расходы (препарат стоит денег) явно указывают на целесообразность разработки физиологически активных форм с пролонгированным (ввел – и надолго) и направленно-комплексным эффектом. Это в большей мере отвечает хозяйственным требованиям, чем экстенсивный путь применения биопрепаратов.

В качестве примечательного штриха отметим и тот факт, что ис-

пользование одного конкретного препарата, как правило, способствует увеличению численности иных содружественных форм за счет создания общих благоприятных условий, выстраивания новых пищевых цепочек или совместного вытеснения конкурентов. В нашем случае ввод активных лактобацилл стимулировал рост и их аборигенных сородичей – пассивных форм. Это актуально и для бифидобактерий, и обширной группы бактериоидов, и других симбионтов, вместе формирующих позитивный эффект и нормализацию физиологических процессов в организме. Синергизм такого рода подтвержден в нашем опыте. Вместе с тем, аналогичная «сплоченность» имеет место и у патогенов, когда предпосылки для развития одних, например кишечной палочки, способствуют росту других видов энтеробактерий (сальмонелла, шигелла, клебсиелла), солидарно подрывающих иммунитет птицы вплоть до манифестации инфекционного процесса. Особенно выражено это при хронических микотоксикозах, где угнетение нормофлоры и прочие нехарактерные сдвиги требуют корректировки такого состояния пробиотическими

средствами в сочетании с их прямым антитоксическим эффектом.

Заключение. Включение в загрязненный комбикорм специализированных антитоксических пробиотиков с подтвержденной способностью деструкции микотоксинов позволит смягчить последствия хронических отравлений. Для практического применения можно рекомендовать уровни не ниже 10^7 - 10^8 КОЕ/г. В зависимости от свойств конкретного препарата, низкие дозы целесообразно использовать в постоянном режиме, а высокие – равно-периодично, что снизит нисходящую динамику убыли полезных микроорганизмов в кишечнике и гарантирует защитный эффект.

В нашем случае выявлен серьезный изъян в адгезии лактобацилл новых штаммов, для устранения (улучшения) которого необходимо внести коррективы в текущую селекционную программу по созданию толерантных форм, способных постоять за себя, используя собственные механизмы адаптации и защиты. Данный параметр необходимо учитывать наряду с иными культуральными свойствами, и добиваться его улучшения.

Литература

- 1 Брылин, А.П. Влияние микотоксинов на эпизоотическое благополучие, иммунитет и производство экологически безопасной продукции птицеводства / А.П. Брылин // Птицеводство. - 2019. - №5. - С. 57-64.
- 2 Иванов, А.В. Микотоксины (в пищевой цепочке) / А.В. Иванов, В.И. Фисинин, М.Я. Трemasов, К.Х. Папуниди. - Москва: Росинформагротех, 2012. - 136 с.
- 3 Малков, М.А. Микотоксины - стратегия устранения их влияния на организм сельскохозяйственных животных и птицы / М.А. Малков, В.В. Богомоллов, Т.В. Данькова, К.А. Краснов // Технология животноводства. - 2010. - №1-2. - С. 4-5.
- 4 Гулюшин, С. Пробиотики при микотоксикозах: энзимы - главный критерий / С. Гулюшин, Е. Елизарова, А. Долгорукова // Комбикорма. - 2018. - №12. - С. 71-73.
- 5 Гулюшин, С.Ю. Пробиотики при микотоксикозах: правильно оцениваем препараты / С.Ю. Гулюшин, Е.В. Елизарова // Птицеводство. - 2017. - №11. - С. 23-25.
- 6 Казарян, Р.В. Перспективные направления применения пробиотиков для создания полифункциональных кормовых добавок / Р.В. Казарян, А.С. Бородихин, М.В. Лукьяненко, А.Д. Ачмиз, А.Н. Матвиенко // Новые технологии. - 2018. - №2. - С. 116-121.
- 7 Нуралиев, Е.Р. Диагностика, лечение и профилактика токсикоза птиц, вызванного микотоксинами / Е.Р. Нуралиев, И.И. Кочиш, А.Л. Киселев, М.П. Семененко, Л.Ж. Тлеуова, Р.И. Шарипов // Ветеринария. - 2014. - №4-5. - С. 69-77.



- 8 Шкуратова, И. Пробиотики против микотоксикозов / И. Шкуратова, И. Лебедева, М. Ряпосова, И. Коноплева, П. Бусыгин // Животноводство России. - 2017. - №1S. - С. 52-54.

Сведения об авторе:

Гулюшин С.Ю.: кандидат биологических наук, зав. лабораторией микотоксикологии; micotox@mail.ru. Статья поступила в редакцию 18.10.2022; одобрена после рецензирования 04.11.2022; принята к публикации 15.11.2022.

Research article

Influence of Dietary Dose of a Probiotic with Antitoxic Effect and Supplementation Regime on Quantity and Quality of Lactobacilli in Large Intestine in Broilers

Sergey Y. Gulyushin

Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences

Abstract. The study on broilers (1-14 days of age) revealed the descending dynamics of the concentration of Lactobacilli in the large intestine with the decreasing period of feeding of a probiotic with antitoxic effect. The longer was period of feeding of probiotic during the first days of age the higher was final concentration of active forms in the intestine. The effect of the dose of probiotic was also evident: the higher the dose the lesser decrease in intestinal concentration of Lactobacilli with age. The study evidenced that with dose of probiotic 10^7 CFU/g of feed the most effective regime of its feeding was 6-7-day periods with 1-day intervals, while with higher dose (10^8 CFU/g) the equal feeding periods and intervals (7x7 days, 6x6 etc., in a way most convenient for the given farm) were found more effective.

Keywords: mycotoxins, probiotic preparations, Lactobacilli, adhesion, large intestine, broilers.

For Citation: Gulyushin S.Y. (2022) Influence of dietary dose of a probiotic with antitoxic effect and supplementation regime on quantity and quality of Lactobacilli in large intestine in broilers. *Ptitsevodstvo*, 71(12): 26-30. (in Russ.)

doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-12-26-30

References

1. Brylin AP (2019) *Ptitsevodstvo*, (5):57-64; doi 10.33845/0033-3239-2019-68-5-57-64 (in Russ.).
2. Ivanov AV, Fisinin VI, Tremasov MY, Papunidi KK (2012) Mycotoxins (in Food Chain). Moscow, RosInformAgrotech, 136 pp. (in Russ.).
3. Malkov MA, Bogomolov VV, Dankova TV, Krasnov KA (2010) Mycotoxins: strategies of elimination of their effects on animals and poultry. *Technol. Anim. Prod.*, (1-2):4-5 (in Russ.).
4. Gulyushin S, Elizarova E, Dolgorukova A (2018) *Compound Feeds*, (12):71-3; doi 10.25741/2413-287X-2018-12-4-040 (in Russ.).
5. Gulyushin SY, Elizarova EV (2017) Probiotics against mycotoxicoses: correct evaluation. *Ptitsevodstvo*, (11):23-5 (in Russ.).
6. Kazaryan RV, Borodikhin AS, Lukyanenko MV, Achmiz AD, Matvienko AN (2018) Prospective trends for the use of probiotics for the creation of polyfunctional feed additives. *New Technol.*, (2):116-21 (in Russ.).
7. Nuraliev ER, Kochish II, Kiselev AL, Semenenko MP, Tleuova LZ, Sharipov RI (2014) Diagnostication, therapy, and prophylaxis of mycotoxin-induced toxicoses in poultry. *Veterinary*, (4-5):69-77 (in Russ.).
8. Shkuratova I, Lebedeva I, Ryaposova M, Konopleva I, Busygin P (2017) Probiotics against mycotoxicoses. *Rus. Anim. Prod.*, (1S):52-4 (in Russ.).

Author:

Gulyushin S.Y.: Cand. of Biol. Sci., Head of Lab. of Mycotoxicology; micotox@mail.ru. Submitted 18.10.2022; revised 04.11.2022; accepted 15.11.2022.

© Гулюшин С.Ю., 2022