

В. М. МИРОНЕНКО, кандидат ветеринарных наук, доцент

В. Г. КИРИЩЕНКО, магистр ветеринарных наук, ассистент

В. Н. АЛЕШКЕВИЧ, кандидат ветеринарных наук, доцент

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Витебская область, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ МОНИЕЗИЙ НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА КОРОВ В СОСТАВЕ АССОЦИАТИВНЫХ ИНВАЗИЙ

Макроорганизм и его микрофлора являются единой экологической системой, находящейся в состоянии динамического равновесия.

Нормальная микрофлора – это открытый биоценоз микроорганизмов, встречающихся у здоровых людей и животных. Этот биоценоз должен быть свойствен совершенно здоровому организму. Он физиологичен, то есть способствует поддержанию здорового статуса макроорганизма, правильному отправлению его нормальных физиологических функций [1, 2].

Эволюция паразитарных систем превратила их в устойчивые саморегулирующиеся природные структуры с широким диапазоном экологической валентности.

В иерархической структуре эколого-паразитарной системы различают синпаразитарную экосистему и микропаразитоценоз.

Под синпаразитарной экосистемой А.П. Маркевича (1975), предложил понимать совокупность интегрированных многовидовых комплексов как паразитов, так и условно-патогенных организмов, обитающих не только в организме животных, но и в открытой природе на разных стадиях развития вместе с дефинитивными, промежуточными, резервуарными хозяевами, а также механическими переносчиками инфекционного и инвазионного начала [3, 4].

Микропаразитоценоз – это открытая, автономная, постоянно меняющаяся во времени, неустойчивая, с кооперативным эффектом группировка экологически связанных паразитических организмов, принадлежащих к разным таксонам внутри или на покровах одного из них, именуемого хозяином [4, 5].

В состав микропаразитоценозов входят, кроме вирусов и бактерий, также патогенные грибы, простейшие, гельминты, паразитические членистоногие и и другие. Крупные формы паразитарных агентов сильно травмируют ткани и органы, делая их доступными для проникновения патогенных микроорганизмов и приводят к понижению колонизационной резистентности слизистой оболочки кишечника и уменьшению нормальной облигатной микрофлоры. Развивающийся воспалительный процесс, обильная экссудация, выход крови – все это создает условия и формирует благоприятную среду для факультативно-анаэробных бактерий [6, 7].

В настоящее время имеются все основания считать, что моноинфекции существуют преимущественно только в опытах с гнотобиотами. В естественных условиях преобладают полиинфекции, возбудители которых вызывают сложные патологические процессы, снижают иммунную реактивность, на фоне этого происходят серьезные нарушения в функционировании различных органов и систем организма [3, 6, 8].

В связи с выше изложенным, определение взаимоотношений мониезий и ассоциаций паразитов с нормальной микрофлорой кишечника коров представляет научный и практический интерес, что и явилось целью наших исследований.

Материал и методы исследований. Исследования выполнялись в условиях клиники и научной лаборатории кафедры паразитологии и инвазионных болезней животных, кафедры микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ. Объектом исследований были коровы черно-пестрой породы в возрасте 3-4 лет. Кормление, содержание и уход за животными в течение опыта были идентичными. Были сформированы три группы животных по 3 головы в каждой. Коровы 1-опытной группы были спонтанно инвазированы цестодами рода *Moniezia*, нематодами подотряда *Strongylata*, простейшими рода *Eimeria*. Интенсивность выделения в 1-ой опытной группе варьировала в пределах 12-358 яиц мониезий в 10 г фекалий, 17-347 яиц подотряда *Strongylata* в 10 г фекалий, 15-53 ооцист простейших рода *Eimeria* в 10 г фекалий.

Коровы 2-ой опытной группы были спонтанно инвазированы цестодами рода *Moniezia*, нематодами подотряда *Strongylata*, простейшими рода *Eimeria*. Интенсивность выделения в 2-опытной группе варьировала в пределах 9-472 яиц мониезий в 10,0 г фекалий, 11-125 яиц подотряда *Strongylata* в 10 г фекалий, 16-49 ооцист простейших рода *Eimeria* в 10,0 г фекалий. Смешанная инвазия протекала субклинически. Коровам 2-ой опытной группы была оказана лечебная помощь, внутримышечно вводили инъекционный препарат на основе празиквантела. Контрольная группа была сформирована из неинвазированных коров.

Предметом исследования являлись фекалии коров, яйца гельминтов, ооцисты эймерий. Пробы фекалий исследовали количественным седиментационно-флотационным методом с центрифугированием для диагностики низкоинтенсивных инвазий (Мироненко В.М., 2008, 2009), а также седиментационно – флотационным методом по технике Щербовича с насыщенным раствором, состоящим из смеси насыщенных растворов натрия хлорида и натрия гипосульфита с плотностью 1,3 (Мироненко В.М., 2007).

В ходе исследований определяли в толстом отделе кишечника количество кишечных палочек, бифидобактерий, лактобактерий, аэробных бацилл, микроскопических грибов.

Пробы фекалий отбирали от коров непосредственно из прямой кишки во время дефекации в стерильную посуду. После получения материала, используя метод последовательных (серийных) разведений, готовили 10-кратные разведения фекалий в 10 пробирках со стерильным физиологическим раствором. Для выделения изучаемых бактерий посев проводили на соответствующие агаризованные питательные среды в чашках Петри в объеме 0,1 мл суспензии фекалий различных разведений в зависимости от предполагаемого количества тех или иных микроорганизмов. Для выделения бифидобактерий использовали бифидумбактериум-агар, для выделения лактобактерий – агаризованную среду MRS. Для предотвращения роста дрожжеподобных грибов рода *Candida* в агаризованную среду MRS добавляли раствор сорбиновой кислоты в 1М NaOH из расчета 14 г/л. Культивирование анаэробной микрофлоры проводили в микроанаэроstate при +37°C в течение 48 – 72 часа.

Для выделения грамотрицательных неспорообразующих факультативно-анаэробных бактерий использовали среду Эндо. При учете колоний отмечали отдельно лактозонегативные и лактозопозитивные колонии.

Для выделения микроскопических грибов использовали среду Сабуро. Инкубация посевов проводилась в течение 48-72 часов при температуре +26-37°C.

Ориентировочную идентификацию бифидо- и лактобактерий проводили микроскопическим методом (окраска по Граму), который позволяет оценить морфологию клеток. В мазках бифидобактерии имели вид прямых и разветвленных грамположительных палочек X, Y и V-образной формы с булавовидным утолщением на концах. Молочнокислые бактерии представляли собой прямые грамположительные палочки с закругленными концами, расположенные в поле зрения единично или цепочками. Идентификацию кишечной палочки проводили по морфолого-культуральным и биохимическим свойствам. Родовую принадлежность микромицет определяли с учетом их морфологических и культуральных особенностей.

Продолжительность опыта составила 30 дней. Пробы фекалий для определения в толстом кишечнике количества кишечных палочек, бифидобактерий, лактобактерий, аэробных бацилл, грибов отбирали на 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30 дни.

Статистическую обработку цифрового материала провели с использованием компьютерной программы Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. При исследовании фекалий неинвазированных коров в течение опыта количество бифидобактерий составляло $14,44 \pm 3,16 \times 10^7$ КОЕ/г, молочнокислых бактерий – $10,11 \pm 0,58 \times 10^7$ КОЕ/г, кишечной палочки – $11,99 \pm 0,64 \times 10^7$ КОЕ/г. Количество грибов было равно $5,26 \pm 0,39 \times 10^3$ КОЕ/г, количество аэробных бацилл – $6,29 \pm 0,43 \times 10^4$ КОЕ/г.

Таким образом, количественная характеристика резидентных и транзиторов представителей микрофлоры кишечника неинвазированных коров соответствовала таковой у животных в норме.

При исследовании фекалий у инвазированных коров 1-ой опытной группы количество бифидобактерий находилось на уровне $3,89 \pm 0,67 \times 10^4$ КОЕ/г, молочнокислых бактерий – $3,15 \pm 0,43 \times 10^4$ КОЕ/г, кишечной палочки – на уровне $13,55 \pm 2,80 \times 10^4$ КОЕ/г. Количество грибов у животных 1-ой опытной группы было на уровне $14,81 \pm 3,12 \times 10^5$ КОЕ/г, количество аэробных бацилл – на уровне $18,37 \pm 1,50 \times 10^5$ КОЕ/г.

При исследовании фекалий у инвазированных коров 2-ой опытной группы, которым вводили инъекционный препарат на основе празиквантела, до 15 дня количество бифидобактерий находилось на уровне $4,07 \pm 0,52 \times 10^4$ КОЕ/г, молочнокислых бактерий – в пределах $4,20 \pm 0,50 \times 10^4$ КОЕ/г, кишечной палочки – на уровне $9,47 \pm 2,28 \times 10^4$ КОЕ/г. Количество грибов у животных 2-ой опытной группы было на уровне $10,47 \pm 2,45 \times 10^5$ КОЕ/г, количество аэробных бацилл – на уровне $19,09 \pm 1,29 \times 10^5$ КОЕ/г. С 15 дня и по 30 день исследования отмечается увеличение количества лакто- и бифидобактерий у животных 2-ой опытной группы по сравнению с животными 1-ой опытной группы и постепенное снижение количество аэробных бацилл и микромицетов. На 30-й день исследований у животных 2-ой опытной группы количество бифидобактерий было на уровне $18,33 \pm 1,76 \times 10^6$ КОЕ/г, лактобактерий – на уровне $21,33 \pm 4,48 \times 10^6$ КОЕ/г, кишечной палочки – $12,66 \pm 2,33 \times 10^4$ КОЕ/г, аэробных бацилл – $7,66 \pm 1,76 \times 10^5$ КОЕ/г, микромицетов – $5,33 \pm 0,88 \times 10^5$ КОЕ/г.

Таким образом, по сравнению с контрольной группой, микрофлора кишечника коров 1-2-ой опытной групп, инвазированных ассоциациями паразитов (*Moniezia* sp., нематодами подотряда Strongylata и простейшими рода *Eimeria*),

имела значительные отличия: уменьшилось количество представителей нормальной микрофлоры (особенно со стороны бифидобактерий, лактобацилл и кишечных палочек), появились лактозонегативные колиформных бактерий. Также в большом количестве отмечался рост грибов.

После освобождения организма коров от мониезий (интенсивность инвазии нематодами подотряда Strongylata и простейшими рода Eimeria оставалась в указанный период на прежнем уровне) у животных 2-ой опытной группы к 30 дню отмечено увеличение ($p \leq 0,01$) количества бифидобактерий до $18,33 \pm 1,76 \times 10^6$ КОЕ/г, количества лактобактерий до уровня $21,33 \pm 4,48 \times 10^6$ КОЕ/г. Рост аэробных бацилл и микромицетов отмечали в том же разведении.

Полученные результаты согласуются с имеющимися в литературе данными о неблагоприятном влиянии мониезий и ассоциативных гельминтозов на микробиоценоз желудочно-кишечного тракта. Нами впервые установлена ведущая роль мониезий в составе паразитоценоза мониезии + стронгиляты + эймерии в изменении качественного и количественного состава микрофлоры кишечного тракта коров при низкой интенсивности инвазии [9]. Данное обстоятельство, по нашему мнению, может быть объяснено значительным размером мониезий, что приводит к выраженному токсическому и механическому воздействию на содержимое и слизистую оболочку большей части тонкого кишечника даже при низкой интенсивности инвазии.

Заключение. При низкоинтенсивных ассоциативных инвазиях возбудителями рода *Moniezia* sp., нематодами подотряда Strongylata, простейшими рода Eimeria изменяется микробиоценоз желудочно-кишечного тракта коров: происходит резкое уменьшение количества бифидо- и лактобактерий, кишечной палочки с одновременным появлением лактозонегативных колиформных бактерий, увеличением содержания аэробных бацилл и микромицетов. Освобождение организма от мониезий, после введения инъекционного препарата на основе празиквантела, при сохранении в составе паразитоценоза нематод подотряда Strongylata и простейших рода Eimeria, приводит к восстановлению качественного и количественного состава микрофлоры кишечного тракта коров.

Список використаної літератури

1. Сорокин, В. В. Нормальная микрофлора кишечника животных / В. В. Сорокин, М. А. Тимошко, А. В. Николаева. – Кишинев, Штиинца, 1973. – 80 с.
2. Тимошко М. А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных / М.А. Тимошко. – Кишинев, Штиинца, 1990. – 190 с.
3. Маркевич, А. П. Паразитоценология. Теоретические и прикладные проблемы / А. П. Маркевич [и др.]. – Киев: Наукова думка, 1985. – 248 с.
4. Дебердеева Л. Р. Эндопаразитоценозы как фактор, снижающий биоресурсный потенциал свиноводства и их мониторинг в средне Волжском регионе : Дис. ... канд. биол. наук : 03.00.32, 03.00.16 / Л.Р. Дебердеева; ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия». – Ульяновск, 2006. – 161 с.
5. Ятусевич А. И. К проблеме мониезиеза крупного и мелкого рогатого скота в Республике Беларусь / А. И. Ятусевич, В. М. Мироненко, В. Г. Кирищенко // Экология и инновации: материалы VII Международной научно-практической конференции, г. Витебск, 22-23 мая 2008 года. – Витебск: УО ВГАВМ, 2008. – С. 178-179.

6. Мироненко В. М. Микробиоценоз кишечника при ассоциативных инвазиях жвачных / В.М. Мироненко, А.И. Ятусевич, В.Г. Кирищенко // Журнал «Ветеринария и кормление». – Москва, 2009. – №6. – С. 64-65.

7. Панасюк Д. И. Проблемы ассоциации гельминтов, патогенных простейших и микрофлоры при интенсивном ведении животноводства / Д. И. Панасюк, В. В. Филиппов, П. В. Радионов. – Москва, ВАСХНИЛ, 1978. – 123с.

8. Ятусевич А. И. Влияние мониезий в составе ассоциативных инвазий на микрофлору кишечника овец / А. И. Ятусевич, В. Г. Кирищенко, В. М. Мироненко и др. // Ученые записки : сб. науч. тр. / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2009. – Т.45, Вып. 2., Ч. 1. – С. 148-151.

9. Пинегин В. В. Дисбактериозы кишечника / В. В. Пинегин, В. Н. Мальцев, В. М. Коршунов. – Москва, Медицина, 1984. – 211с.

ВПЛИВ МОНІЄЗІЙ НА МІКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКУ КОРІВ У СКЛАДІ АСОЦІАТИВНИХ ІНВАЗІЙ / Мироненко В.М., Кирищенко В.Г., Алешкевич В.Н.

При низько інтенсивних асоціативних інвазіях збудники сімейства Moniezia sp., нематодами підвиду Strongylata та простішими сімейства Eimeria, змінюється мікробіоценоз шлунково-кишкового тракту корів. Звільнення організму від монієзій приводить до відновлення якісного та кількісного складу мікрофлори кишечного тракту худоби.

Ключові слова: асоціативні інвазії, мікробіоценоз, мікрофлора.

INFLUENCE OF MONIEZIAE IN ASSOCIATIVE INFESTATION ON THE INTESTINE MICROFLORA IN COW / Mironenko V.M., Kirischenko V.G., Aleshkevich V.N.

At low associative infestations with Moniezia sp., nematodes Strongylata, protozoa Eimeria of the intestine microflora undergoes a significant change. Recovery of the monieziae contributes to quality and quantity normalization of the intestine microflora.

Key words: asotsiativni invazii, mikrobiotsenoz, mikroflora.

Рецензент: доктор ветеринарних наук, професор **А.В. Березовський.**