

УДК 616.34:995.1:636.1

© 2010

Лукьянова Г.А., кандидат ветеринарных наук

Южный филиал Национального университета биоресурсов и природопользования Украины
«Крымский агротехнологический университет»

Евстафьева В.А., кандидат ветеринарных наук
Полтавская государственная аграрная академия

МИКРОБИОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКА У ЛОШАДЕЙ ПРИ СТРОНГИЛЯТОЗНОЙ ИНВАЗИИ

Рецензент – кандидат ветеринарных наук И.А. Гуренко

Вкладено дані щодо мікробіологічного дослідження вмістимого тонкого і товстого кишечника коней башкирської породи, спонтанно інвазованих кишковими стронгілятами. Відмічено значні відхилення в аутофлорі, викликані гельмінтами. На фоні дефіциту біфідофлори порушилося нормальне співвідношення між облигатними мікроорганізмами кишок: знижена кількість лактобактерій, кишкових паличок, збільшена чисельність ентерококів, клостридій, протея, характерна поява в них гемолітичних і патогенних властивостей.

Ключевые слова: микрофлора, стронгилята, лошади, кишечник, гельминты.

Постановка проблемы. Известно, что физиологический статус макроорганизма теснейшим образом связан с его микрофлорой. Постоянство микрофлоры кишечника и ее сбалансированность определенным образом влияют на гомеостаз организма и его функциональное состояние. С одной стороны, представители нормальной микрофлоры кишечника играют важную роль в поддержании резистентности к инфекции, синтезе витаминов, аминокислот, а также выполняют ряд физиологических функций, связанных с утилизацией пищи и поддержанием адекватности питания, с другой стороны, нарушение нормальной эндоэкологии желудочно-кишечного тракта, чрезмерное заселение микроорганизмами тонкой кишки может привести к ряду патологических явлений [5-6].

Анализ основных исследований и публикаций, в которых описано решение проблемы. Исследователи рассматривают совокупность микроорганизмов желудочно-кишечного тракта как микробную экосистему, которая благоприятна для организма хозяина. При этом в составе микрофлоры кишечника существуют потенциально патогенные микробы, но экологический баланс здесь таков, что они остаются в количестве, безопасном для организма. С нарушением микробной экосистемы изменяется баланс, и условно-

патогенные микроорганизмы становятся доминирующими, в результате чего возникает заболевание. Нормальное взаимоотношение в микробной экосистеме может быть нарушено антибиотиками, гельминтами, другими факторами. В результате в желудочно-кишечном тракте развивается дисбактериоз и возникает ассоциативное заболевание [1, 4].

Паразиты кишечника являются одной из причин нарушения в желудочно-кишечном тракте микробного равновесия. На этом фоне у животных снижается иммунологическая реактивность, появляются гастроэнтерологические расстройства, нарушения функций печени, аллергия, гиповитаминозы, анемия, дерматиты и экземы [7].

В связи с вышесказанным **целью нашей работы** было: изучить состояние микробиоценоза кишечника лошадей на фоне гельминтного заражения для использования этих данных при разработке схем патогенетической терапии.

Методы и методика исследования. Изучение микропаразитоценоза кишечника проводили у лошадей (27 голов), спонтанно инвазированных стронгилятами желудочно-кишечного тракта. У животных протекала ларвальная и имагинальная стадия развития гельминтов; при этом выявляли наличие паразитарных цист в толстых кишках (*Cyathostominae*) и в стенке брыжеечных артерий (*Delafondia*). Материалом для бактериологических исследований служило содержимое тонких и толстых кишок. Посевы из содержимого кишечника проводили в течение 1,5 часов после убоя. В стерильных условиях готовили ряд последовательных разведений содержимого кишок до 10^9 ; каждое разведение сеяли в объеме по 0,1мл на МПА (для определения общего числа аэробов), солевой МПА (стафилококков), среду Блаурококка (бифидобактерий), кровяной агар с колистином и натриксовой кислотой (бактероидов), Вильсон-Блера (клостридий), среду ВНИИЖ (лактобацилл), среду Эндо (*E. coli*), среду Чапека

(грибов). Посевы инкубировали в термостате при температуре +37,5°C в течение 16-24 часов в аэробных и анаэробных условиях для определения бактерий, при температуре +20...+22°C в течение 4 суток – для грибов.

Для определения видовой принадлежности микробов у выделенных культур изучали биохимические и морфологические свойства общепринятыми методами. У изолированных стафилококков, стрептококков, *E. coli* и протей изучали гемолитические свойства и способность выделять токсины.

Результаты исследований. Поскольку гельминтофауна посредством продуктов собственного метаболизма влияет на организм хозяина и формирует присущую ей среду обитания (в физическом и химическом отношении), всё это отражается на компонентах микробиоценоза кишечника макроорганизма.

Бактериологические исследования содержимого кишечника инвазированных лошадей показали, что видовой состав микроорганизмов существенно не отличался от состава микрофлоры кишечника агельминтных животных [3], но отчётливо прослеживалось изменение их количественных соотношений. Результаты бактериологических исследований инвазированных лошадей представлены в таблице.

Облигатная микрофлора кишечника инвазированных лошадей была представлена бактероидами, бифидобактериями, лактобактериями, непатогенными кишечными палочками, кокками и актиномицетами. На фоне инвазии количество бифидобактерий и бактероидов в толстом и тонком отделах кишечника было снижено в 2-2,5 раза, по сравнению с агельминтными лошадьми: тонкий кишечник – $4,3 \pm 0,02 \cdot 10^5$ КОЕ/г бифидо-

бактерий и $0,65 \pm 0,01 \cdot 10^5$ КОЕ/г бактероидов; толстый кишечник – $3,81 \pm 0,08 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г бифидобактерий и $1,21 \pm 0,04 \cdot 10^8$ КОЕ/г бактероидов (см. табл.).

Во всех пробах содержимого кишечника от инвазированных лошадей концентрация кишечной палочки колебалась в пределах от $210,4 \pm 0,2$ КОЕ/г в тонком кишечнике до $314,2 \pm 0,31$ КОЕ/г – в толстом, в то время как нормальные её показатели составляют $7,1 \pm 0,2 \cdot 10^2$ КОЕ/г (содержимое тонких кишок) и $7,9 \pm 0,31 \cdot 10^2$ КОЕ/г (содержимое толстого кишечника). Количество кишечной палочки среди других бактерий у здоровых неинвазированных животных не очень велико, но роль её существенна. Данный микроб является главным конкурентом условно-патогенной микрофлоры, препятствуя заселению чужеродными микробами кишечной стенки. Также кишечная палочка забирает из просвета кишечника кислород, который является ядом для бифидобактерий и лактобактерий [4]. Снижение общего количества данного микроорганизма (что имело место в наших исследованиях) является характерным признаком присутствия в кишечнике небактериальных паразитов – гельминтов, которые также нуждаются в кислороде, обделяя им кишечную палочку. Кроме того, выделяемая из кишечника инвазированных лошадей кишечная палочка имела сниженную ферментативную активность, то есть данная бактерия не представляет никакого вреда, но и не выполняет своих полезных функций. В 12,6% исследованных проб кишечного содержимого выделена кишечная палочка с гемолитическими свойствами, наличия которой у агельминтных лошадей не отмечали.

Микробный состав содержимого кишечника инвазированных стронгилятами лошадей

Микрофлора	Количество КОЕ/г содержимого	
	тонкого кишечника	толстого кишечника
Бифидобактерии	$4,3 \pm 0,02 \cdot 10^5$	$3,81 \pm 0,08 \cdot 10^{10}$
Лактобактерии	$3,1 \pm 0,05 \cdot 10^5$	$3,4 \pm 0,1 \cdot 10^{10}$
Бактероиды	$0,65 \pm 0,01 \cdot 10^5$	$1,21 \pm 0,04 \cdot 10^8$
Стафилококки	$3,2 \pm 0,04 \cdot 10^5$	$5,7 \pm 0,21 \cdot 10^8$
Стрептококки	$4,6 \pm 0,13 \cdot 10^6$	$1,7 \pm 0,14 \cdot 10^8$
<i>E. coli</i>	$210,4 \pm 0,2$	$314,2 \pm 0,31$
Клостридии	$2,3 \pm 0,6$	$14,2 \pm 0,03$
<i>P. vulgaris</i>	$13,7 \pm 1,04$	$2,7 \pm 0,2 \cdot 10^2$
Псевдомонады	-	$6,2 \pm 0,04$
Актиномицеты	$0,23 \pm 12,06 \cdot 10^3$	$0,63 \pm 10,03 \cdot 10^3$
Дрожжеподобные грибы	$4,15 \pm 1,24$	$8,26 \pm 0,21$

У заражѐнных гельминтами животных количество лактобактерий не превышало $3,1 \pm 0,05 \cdot 10^5$ КОЕ/г в тонком кишечнике и $3,4 \pm 0,1 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г в толстом кишечнике, что почти в два раза меньше, чем у агельминтных животных. Это второй по численности и по значимости представитель нормальной микрофлоры кишечника. Поэтому снижение его количества свидетельствует о существенных сдвигах в кишечном биоценозе, вызванных гельминтами, которые требуют корректировки.

Кокковые формы микробов в общей сумме микроорганизмов являются представителями условно-патогенной флоры. Их количество у агельминтных лошадей составляет: тонкий кишечник $6,4 \pm 0,51 \cdot 10^2$ КОЕ/г – стафилококки и $2,1 \pm 0,11 \cdot 10^2$ КОЕ/г – стрептококки; толстый кишечник – $7,2 \pm 0,63 \cdot 10^3$ – стафилококки и $2,4 \pm 0,13 \cdot 10^3$ КОЕ/г – стрептококки.

При инвазировании лошадей кишечными стронгилятами регистрировали существенное возрастание количественных показателей энтерококков в содержимом кишечника тонкого и толстого отделов: тонкий кишечник $3,2 \pm 0,04 \cdot 10^5$ КОЕ/г – стафилококки и $4,6 \pm 0,13 \cdot 10^6$ КОЕ/г – стрептококки; толстый кишечник – $5,7 \pm 0,21 \cdot 10^8$ КОЕ/г – стафилококки и $1,7 \pm 0,14 \cdot 10^8$ КОЕ/г – стрептококки.

В общей сложности выделили и изучили 84 культуры стафилококков, которых отнесли к видам *Staphylococcus saprophyticus*, *Staph. epidermidis*, *Staph. aureus*. Из них наиболее патогенным был *Staph. aureus* (46,4% культур), 28,6% культур выделенного золотистого стафилококка были патогенными для белых мышей и имели гемолитические свойства. Выделенные культуры *Staph. saprophyticus* не обладали гемолитическими свойствами и токсинообразованием. Культуры *Staph. epidermidis*, изолированные из кишечника инвазированных стронгилятами лошадей, в 8,3% случаев вызывали гемолиз при культивировании на кровяном агаре.

Одновременно в опытах изолировали 124 культуры стрептококков. Чаще из тонкого и толстого отделов кишечника выделяли *Streptococcus faecalis* (38 культур), *Str. faecium* (36 культур), *Str. pyogenes* (24), *Str. viridans* (12), *Str. haemolyticus* (12). Высокопатогенным был *Str. pyogenes* – вызывал 50% гибель белых мышей, а также в 75% случаев имел гемолитические свойства. Умеренной патогенностью обладали *Str. viridans* (9%) и *Str. haemolyticus* (5%). Остальные культуры были не патогенны для белых мышей

и при инкубировании на кровяном агаре гемолиза не вызывали.

Под действием глистной инвазии у лошадей произошло изменение локализации аутофлоры, которое выразилось в диссимиляции микроорганизмов вида *P. vulgaris* в верхние отделы кишечника, тогда как у агельминтных лошадей в тонких кишках данные бактерии не встречаются. В толстом кишечнике количество этих микробов возросло в два раза и составило $2,7 \pm 0,2 \cdot 10^2$ КОЕ/г.

Следует отметить, что доля клостридий на фоне инвазии также возросла до $14,2 \pm 0,03$ КОЕ/г в толстом кишечнике и в содержимом тонких кишок число колониеобразующих единиц клостридий на 1 грамм содержимого составило $2,3 \pm 0,6$. У свободных от гельминтов лошадей в тонком кишечнике клостридии не выявляли.

Таким образом, при бактериологическом исследовании содержимого кишечника инвазированных стронгилятами лошадей отмечали значительные отклонения в аутофлоре, вызванные гельминтами. На фоне дефицита бифидофлоры нарушилось нормальное соотношение между облигатными микроорганизмами кишечника. Отмечалось снижение количества лактобактерий, снижение количества кишечных палочек и появление у них гемолитических и патогенных свойств, а также повышение численности и патогенности условно-патогенных бактерий. При этом аномально размножающиеся микроорганизмы продуцируют нежелательные продукты метаболизма, создавая условия для дисбактериоза [2].

Контроль состояния микрофлоры у инвазированных лошадей позволяет корректировать нежелательные изменения важной аутохтонной части нормальной микрофлоры, исправить нарушения за счет искусственного введения полезных бактериальных представителей, например, бифидобактерий или лактобактерий, и не допустить развития дисбактериоза в очень тяжелых формах.

Выводы: 1. При инвазировании лошадей кишечными стронгилятами в кишечнике формируется паразитоценоз, сочленами которого являются гельминты, условно-патогенные и патогенные бактерии и представители индигенной микрофлоры.

2. Стронгилятозная инвазия у лошадей сопровождается резким увеличением факультативной микрофлоры (стафилококки, стрептококки, кишечная палочка, протей, клостридии) при значительном уменьшении индигенной микрофлоры, что характерно для дисбактериоза.

БИБЛІОГРАФІЯ

1. Гудкова А.Ю. Влияние гельминтов на состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта жвачных животных / А.Ю. Гудкова // Тез. докл. всерос. науч. конф. «Взаимоотношения паразита и хозяина». – М., 1998. – С. 20-21.
2. Карюк Е.А. Иммунный статус, естественный микробиоценоз, минеральный обмен и их коррекция у спортивных лошадей: Дис. ... канд. биол. наук : 16.00.03 / Уфа, 2004. – 158 с.
3. Лукьянова Г.А. Естественный микробиоценоз кишечника у агельминтных клинически здоровых лошадей / Г.А. Лукьянова // Науковий вісник ветеринарної медицини. – Зб. наук. праць. – Біла Церква, 2009. – Вип. 62. – С. 56-59.
4. Парфенов А.И. Дисбактериоз кишечника / И.А. Парфенов, Г.А. Осипов, И.Н. Ручкина // Гастроэнтерология. – М.: Медицина, 2003. – Т. 3, № 3. – С. 287-329.
5. Шептулин А.А. Синдром избыточного бактериального роста бактерий и "дисбактериоз кишечника": их место в современной гастроэнтерологии / А.А. Шептулин // Гастроэнтерол., гепатол., колопроктология. – М., 1999. – № 3. – С. 51-54.
6. Berg R.D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract // Trends Microbiol., 1995. – № 3. – P. 149-154.
7. Harmsen H.J.M., WldeboerVeloo A.C.M., Raangs G.C., Wagendorp A.A., Klijn N., Bindels J.G., Well-ling G.W. Analysis of intestinal flora development in breastfed and formulafed infants by using molecular identification and detection methods // J Ped Gastroenterol Nutr. – Jan., 2000. – № 30. – P. 617.