



Щепёткина Светлана Владимировна,
кандидат ветеринарных наук,
доцент каф.эпизоотологии
ФГОУ ВПО «СПбГАВМ»

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИКОВ В СОБАКОВОДСТВЕ



ИСТОРИЯ ВОПРОСА

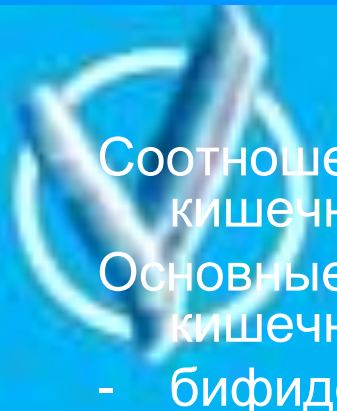
Все участки организма, так или иначе соприкасающиеся с внешней средой, в которой есть микроорганизмы, колонизированы ими.

Микробные биоценозы полости рта, кишечника, кожи имеют как постоянную (облигатную) микрофлору, так и транзиторную (факультативную), - несколько сотен видов.

Только в арктической природной зоне, по понятным причинам, животные инфицированы очень слабо. Еще Луи Пастер пытался вывести "безмикробных" созданий, но потерпел неудачу. Таких животных, гнотобионтов, удалось получить только в нашем веке, благодаря выращиванию в специальных камерах на стерильной пище.

Эти исследования помогли выяснить роль нормальной микрофлоры в синтезе витаминов, аминокислот, становлении иммунной системы и других, важных для организма процессах.

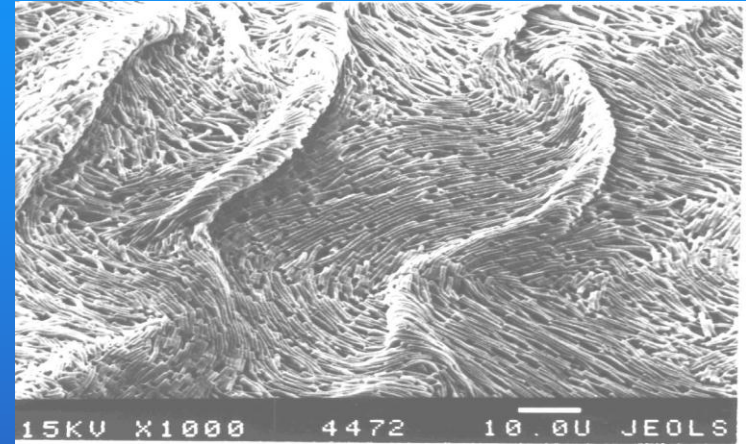
Организм без единого микроба, имеет недоразвитую лимфоидную ткань, мало антител в крови и может существовать только в полностью искусственных, лабораторных условиях.



Соотношение представителей анаэробной-аэробной флоры кишечника в норме составляет примерно 1000:1.

Основные представители резидентной флоры желудочно-кишечного тракта собак:

- бифидобактерии
- лактобактерии,
- бактероиды,
- энтерококки,
- эшерихии,
- дрожжеподобные грибы.



Большую ее часть (до 80-90%) у здоровых моногастричных животных, в том числе и у собак, составляют бифидобактерии.

Второй по численности и по физиологической значимости группой эубиотической флоры желудочно-кишечного тракта животных являются молочнокислые бактерии, представители рода *Lactobacterium*.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОФЛОРЫ МАКРООРГАНИЗМА

Наименование	Количество видов	Количество КОЕ/г или см ²	Характеристические виды
Микрофлора кожи	Более 300 (в составе заробной кожной микрофлоры молочных желез – до 60 видов)	Анаэробных бактерий 10 ⁴ -10 ⁶ Аэробных бактерий 10 ² -10 ⁶	Стафилококки, микрококки, коринебактерии, грибы рода <i>Trichophyton</i> , <i>Malassezia</i>
Микрофлора дыхательных путей	10 ² -10 ⁸ (гортань, трахея, бронхи, бронхиолы, альвеолы и назальные синусы обычно стерильны)		<i>Actinomyces</i> spp., <i>Bacteroides</i> sp., <i>Fusobacterium</i> spp., <i>Micrococcus</i> sp., <i>Neisseria</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp.
Микрофлора рта	Более 300 видов	До 10 ¹²	Стрептококки, микрококки, стафилококки, нейссерии, коринебактерии, бактероиды
Микрофлора желудка		Менее 10 ³	Стрептококки, лактобациллы, грибы
Микрофлора тонкой кишки		Менее 10 ⁴	Кокки, лактобациллы, бифидобактерии
Микрофлора толстой кишки	Более 400 видов	До 10 ¹²	Бактероиды, лактобациллы, бифидобактерии, стрептококки,
Микрофлора гениталий		До 10 ⁷	Эпидермальных стафилококк, зеленающий стрептококк, микобактерии, лактобациллы, бактероиды, бифидобактерии, пептококки

Бифидобактерии

– основная таксономическая группа микрофлоры желудочно-кишечного тракта, которая является показателем здоровья.

При снижении кишечного равновесия бифидофлора первой исчезает из желудочно-кишечного тракта.

Преобладание данных микроорганизмов в кишечнике препятствует размножению патогенных и условно-патогенных бактерий, нормализуя микробиоценоз в целом.

В фекалиях собак преобладают виды:

- *B.adolescentis* (41,7%),
- *B.globosum* (16,7%),
- *B.termophilum* (8,3%).

Ни в одном из случаев не удалось выделить от собак бифидобактерии вида *B.bifidum*, характерные для кишечника человека и используемые для изготовления пробиотических препаратов в медицине.

Антагонистическая активность бифидобактерий

к патогенам, относящимся к энтеробактериям (эшерихии, клебсиеллы, сальмонеллы, протей, шигеллы и т.д.), коккам (стрепто-, стафилококки), вибрионам, кампилобактериям, клостридиям, и другим микроорганизмам обеспечивается за счет образования в процессе ферментации углеводов ацетата и лактата, продукции ЛЖК, лизоцимоподобных и других веществ, обладающих антибактериальной активностью, а также способности подавлять токсинообразование либо разрушать токсины патогенных бактерий и т.д.

Особо следует подчеркнуть их участие в симбиозе с макроорганизмом на уровне пристеночного пищеварения, что определяется хорошо выраженными адгезивными свойствами.

Это является одним из главных элементов конкурентоспособности в освоении пищевой ниши по отношению к другим представителям индигенной флоры и патогенам.

Бифидобактерии принимают участие в регуляции иммунных функций макроорганизма

- стимулируют пролиферацию клеток лимфоидной ткани,
- усиливают фагоцитарную активность макрофагов, моноцитов и гранулоцитов,
- усиливают специфический гуморальный иммунитет, синтез цитокинов (выработку гамма-интерферона, IL-6, TNF, ALPHA),
- стимулируют иммунные механизмы на уровне клеток, включая противоопухолевую защиту.

Бифидобактерии вызывают деконъюгацию желчных кислот, участвуют в водно-солевом, белковом, жировом, нуклеотидном, витаминном обменах, поддержании pH и анаэробнозиса в кишечнике.

Они синтезируют аминокислоты лизин, аргинин, валин, метионин, лейцин, тирозин, а также глютаминовую кислоту.

Внутриклеточно бифидобактерии аккумулируют витамины B1, B2, B6, B12, C, никотиновую, фолиевую кислоты и биотин, а также продуцируют в культуральную среду B6, B12 и фолиевую кислоту.

При дефиците представителей данного рода снижается синтез эндогенного образования витамина K, что ведёт к нарушению процессов свёртывания крови.

Лактобактерии (род *Lactobacterium*)

- вторая по численности и по значимости группа резидентной флоры желудочно-кишечного тракта собак.

Количество лактобактерий у здоровых собак составляет 10^6 - 10^9 /г содержимого толстого отдела кишечника.

При дисбактериозах лактобактерии высеваются в значительно меньшем количестве или их не удается обнаружить вовсе.

Молочнокислые бактерии ферментируют большое количество углеводов и спиртов, отдельные представители данного рода вызывают гидролиз крахмала и синтезируют белки.

Способны синтезировать многочисленные антибиотические вещества (бактериоцины) .

Лактобактерии играют важную роль в становлении иммунитета у новорожденных, имеющих низкую активность клеточного и гуморального иммунитета и низкую фагоцитарную активность мононуклеарных макрофагов. Усиление фагоцитарной активности макрофагов, захват и катаболизм ими антигенов наблюдают при пероральном, подкожном и интраперитонеальном введении.

Молочнокислые бактерии:

- стимулируют продукцию интерферонов и интерлейкинов.
- активно участвуют в метаболизме углеводов, белков, липидов, нуклеиновых кислот
- регулируют водно-солевой обмен, pH и анаэробноз в кишечнике,
- деконъюгируют желчные кислоты,
- синтезируют витаминов, аминов и другие биологически активные соединения.

В фекалиях собак основными видами являются:

L.acidophilum (56%), *L.plantarum* (16%), *L.helveticum* (12%).

Эшерихии

- сапрофиты, входят в состав резидентной флоры кишечника. Располагаются беспорядочно и равномерно по всей полости кишечника, локализуются преимущественно в просвете и лишь отчасти примыкают к эпителию его ворсинок. Активно участвуют в ферментативных процессах в кишечнике, образуя при этом органические кислоты, витамины и др. биологически активные вещества.
- Возможно, кишечную флору следует именовать не сапрофитной, а условно- патогенной, так как в сравнении с другими представителями, относящимся к данной категории микроорганизмов, она является наиболее агрессивной: эшерихии в числе первых заселяют организм после рождения и их чаще других обнаруживают в крови животных при снижении естественного иммунитета, например, после облучения.
- Огромное число эшерихий - патогены с постоянно выраженной высокой вирулентностью.
- В различных отделах кишечника здоровых собак количество эшерихий колеблется в пределах от 10^2 до 10^9 колониеобразующих единиц на 1 г исследуемого материала.

Бактероиды (род Bacteroides)

входят в состав нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, а также ротовой полости, верхних дыхательных путей, мочеполовых органов, входят бактериоиды. Род включает более 20 видов, большинство из которых выделяется из организма человека и животных.

В условиях кислой среды бактериоиды проявляют антагонистическую активность по отношению к сальмонеллам, эшерихиям, другим микроорганизмам и играют существенную роль в резистентности организма к инфекциям.

Однако результаты исследований последних лет свидетельствуют об их участии в этиологии многих патологических процессов: энтеритов, некротических гепатитов, перитонитов, менингитов и т. д.

В 1 г содержимого толстого отдела кишечника здоровых собак их количество колеблется в пределах 10^7 - 10^{10} .

Энтерококки (фекальные стрептококки)

обнаруживают в кишечнике и фекалиях человека и животных, а также в почве и воде.

Являются облигатными представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта и некоторые из них (*Ent. faecium*) включают в состав пробиотических препаратов для нормализации кишечной микрофлоры.

Антагонистические функции связаны с их кислотообразующими свойствами и способностью продуцировать бактериоцины.

В тоже время энтерококки – это факультативно-анаэробные условно-патогенные микроорганизмы, способные вызывать у животных и человека гастроэнтериты, пневмонии, маститы, эндокардиты, менингиты, септицемию и другие заболевания.

Отрицательное воздействие проявляется у особей со снижением общей резистентности.

Содержание представителей данного рода микроорганизмов у здоровых собак составляет 10^4 - 10^8 / г фекалий.

Клостридии

являются нормальной микрофлорой кишечника собак (до 35 видов лостридий).

Количественный показатель отдельных видов (*Cl.clostridiforme*, *Cl.innocuum*, *Cl.ramosum*) может достигать 10_8 - 10_9 /г фекалий.

Частота выделения клостридий из кишечника собак колеблется в пределах 75-100% случаев.

Грибы рода Candida

входят в состав нормальной флоры, заселяющей слизистые оболочки респираторного аппарата и желудочно-кишечного тракта, а также половых органов и кожи.

Из фекалий здоровых собак мы высевали их в количествах до 10^3 , редко - 10^4 /г.

Грибы рода Candida также относятся к условно-патогенным микроорганизмам, и все факторы, снижающие общую или колонизационную резистентность макроорганизма и угнетающие неспецифическую иммунную защиту, создают условия для активизации их роста и развития специфического заболевания - кандидомикоза.

Состав микрофлоры фекалий взрослых здоровых собак:

- бифидобактерии (59,15%);
- лактобактерии (16,89%);
- энтерококки (12,39%);
- энтеробактерии (11,55%);
- прочие микроорганизмы (0,02%)
- Состав микрофлоры фекалий собак с клиникой диареи
- бифидобактерии (0,61%);
- лактобактерии (0,45%);
- энтерококки (0,42%);
- энтеробактерии (98,49%);
- прочие микроорганизмы (0,03%)

ФУНКЦИИ МИКРОФЛОРЫ

Одна из важнейших функций нормальной микрофлоры – обеспечение колонизационной резистентности - совокупности механизмов, придающих стабильность нормальной микрофлоре и обеспечивающих предотвращение заселения организма хозяина посторонними микроорганизмами.

В случае снижения колонизационной резистентности (в первую очередь уменьшения бифидо- и лактофлоры) происходит увеличение числа и спектра потенциально патогенных микроорганизмов, транслокация их и (или) их токсинов через стенку кишечника или других полостей, что может сопровождаться возникновением эндогенной инфекции или суперинфекции различной локализации.

Чаще всего снижение колонизационной резистентности сопровождается развитием желудочно-кишечных заболеваний.

! У 40% собак дисбактериоз сочетается с инвазией глистами и простейшими.

На этом фоне выявляют и серьезные биохимические изменения.

ОСОБЕННОСТИ СТАНОВЛЕНИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА У СОБАК

- Становление кишечного микробиоценоза у собак завершается к 20-25-дневному возрасту и лишь к этому сроку он характеризуется преобладанием бифидо- и лактофлоры. Более раннее естественное завершение заселения кишечника нормальной микрофлорой вряд ли возможно, т.к. лакто- и бифидобактерии начинают активно размножаться в кишечнике лишь через 3-7 дней после рождения.
- У щенят в первые дни жизни кишечник наиболее активно колонизируют эшерихии (100%), энтерококки (75%), стафилококки и другие аэробы и факультативные анаэробы. Лактобактерии в суточном возрасте находят у 58,3% щенков ($2,1 \pm 0,08$ lg/r).
- К 5-дневному возрасту у 80% животных выселяют бифидобактерии, дрожжи и плесени - в 41,7% случаев. Преобладающими микроорганизмами в этом возрасте остаются эшерихии и энтерококки, обнаруженные у 100% животных в количестве $8,3 \pm 0,76$ lg/r и $7,2 \pm 0,39$ lg/r соответственно. Из всех проб удалось выделить лактобактерии.
- С 10- до 30-дневного возраста бифидо- и лактобактерии, эшерихии и энтерококки выделяют от 100% животных. При этом число эшерихий, энтерококков уменьшается, а число бифидо- и лактобактерии увеличивается. Дрожжи и плесени в 10-дневном возрасте обнаружены у 58,3% щенят.
- Кроме того, были выделяют лактозонегативные энтеробактерии (не относящиеся к роду *Proteus*) у 41,7% животных, в 75% случаев - аэробные бациллы и в 33,3% случаев - стафилококки.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАЗВИТИЕ ДИСБАКТЕРИОЗА

- 1) Нерациональное применение антибактериальных препаратов, уничтожающих нормальных симбионтов и как следствие - размножение резистентной флоры
- 2) Аллергические реакции, связанные с сенсibilизацией макроорганизма, включая сенсibilизацию антибиотиками и резистентной флорой.
- 3) «Наследство» после острых инфекционных заболеваний
- 4) Нарушения функций печени и поджелудочной железы.

ПАТОГЕНЕЗ

В результате нарушения функций нормальной микрофлоры активизируются патогенные и гнилостные микроорганизмы, нарушается синтез витаминов и обмен веществ.

Снижается способность макроорганизма противостоять инфекции. Любая инфекция в условиях дисбактериоза протекает длительно, с рецидивами, что требует назначения повторных или длительных курсов антибиотикотерапии, в свою очередь усугубляющих дисбиоз.

По последним данным, именно нарушение симбиозного равновесия микроорганизмов кишечника приводит к хронической интоксикации, авитаминозам, аллергодерматитам.

ФАЗЫ РАЗВИТИЯ ДИСБАКТЕРИОЗА

1. Значительное уменьшение нормальных симбионтов в местах их обычного обитания.
2. Исчезновение некоторых симбионтов и значительное увеличение других, а также представителей микрофлоры, в норме встречающейся в весьма скудном количестве или вообще не встречающейся.
3. Появление аутофлоры в полостях, органах и тканях, в которых она обычно не встречается: кишечной палочки в желчных путях, дрожжевых грибов в моче, кокковых форм в крови и так далее, сопровождающееся изменением токсигенности, вирулентности и патогенности либо отдельных представителей нормальных симбионтов, либо их ассоциаций.

Соответственно и проявления варьируют от субклинических и локальных (например, энтерит различной тяжести) до генерализованных (метастатические очаги инфекции в паренхиматозных органах и сепсис).

ВЛИЯНИЕ НА МИКРОБИОЦЕНОЗ АЛИМЕНТАРНЫХ ФАКТОРОВ :

- длительное несбалансированное питание
- длительное парентеральное питание
- голодание

Фактор	Значение
Избыток животных белков	Увеличение содержания клостридий, бактериоидов, гнилостной и гноеродной флоры, приобретение кишечной палочкой гемолитичности
Увеличение количества животных жиров	Увеличение числа бактериоидов, энтерококков
Преобладание легкоусвояемых углеводов	Рост аэробной условно-патогенной флоры
Основу рациона составляет мясо	Усиливается деятельность протелитической флоры, что ведет к повышению щелочности показателя рН, вздутию живота, поносам.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП АНТИБИОТИКОВ НА КИШЕЧНУЮ МИКРОФЛОРУ

Группа антибиотиков	Примеры	Свойства
Цефалоспорины	Цефалексин, цефотаксим, кобактан	Снижение содержания кишечных палочек, лактобацилл, бифидобактерий, увеличение числа клебсиелл, энтеробактеров, протеев, стафилококков
Тетрациклины	Тетрациклин, доксициклин	-токсическое действие на эпителий и строму слизистой оболочки кишечника -создают благоприятные условия для внедрения патогенных бактерий и развития устойчивых микробов -соединяются с белками и приобретают антигенные свойства; сенсбилизация организма, стимуляция роста грибов рода <i>Candida</i> , стафилококков, клостридий
Аминогликозиды	Гентамицин, канамицин, мономицин	Угнетают рост нормальной кишечной палочки и энтерококков, увеличение в фекалиях грибов рода <i>Candida</i>
Аминопенициллины	Апициллин, ампиокс и др.	Способствуют росту микробов рода <i>Protey</i> , стрептококков, стафилококков, обсеменению ими тонкой кишки
Линкозамиды	Линкомицин, клиндамицин	Угнетение лактобацилл, кокков, бифидобактерий с увеличением количества протеев, псевдомонад, цитробактеров, кандиды, кишечных палочек и клостридий
Макролиды	Эритромицин, рифампицин	Увеличение количества клебсиелл, энтеробактеров, протеев, псевдомонад
Антимикотики	Нистатин, ламизил, орунгал	Приводят к селективному размножению лактозоотрицательных эшерихий, протеев.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ МИКРОБИОЦЕНОЗА

Термин	Действующее начало препарата	Механизм действия	Примеры
Пробиотик	Микроорганизмы (живые или убитые), их структурные компоненты, метаболиты	Регуляция физиологических функций и биохимических реакций макроорганизма хозяина через нормализацию микрoэкологического статуса: а) непосредственное участие в метаболизме органов и тканей; б) опосредованная регуляция функционирования биопленок на слизистых макроорганизма	Стрептобифид Иммунобак Хилак-форте Витафлор Мультибактерин Ветом
Пребиотик	Добавки не микроbного происхождения	Селективная стимуляция роста и/или активности представителей нормальной микрофлоры	Олигосахариды (инулин, лактулоза) Эубикор Пантотенат Растительные волокна (отруби)
Синбиотик	Пробиотик + пребиотик	Сочетанное действие препаратов первой и второй групп	Бифидумбактерин Бифилиз (ВИГЭЛ) Мультибактерин
Иммунобиотик	пробиотик + иногда иммуностимулятор	Некоторые пробиотики на основе <i>Lactobacillus acidophilus</i> получили новое название иммунобиотики за их активное иммуномодулирующее действие	Витафлор, мультибактерин

Сравнительный анализ «за» и «против» использования пробиотических и антибиотических препаратов

Показатели	Пробиотики	Антибиотики
Естественное присутствие у животных	+	--
Риск возникновения бактериальной резистентности	--	+
Требуется ли предосторожность при приготовлении	--	+
Пролонгированная персистенция сальмонелл	--	+
Специальные условия хранения	+	--
Естественное наличие у людей	+	--
Наличие экологических проблем	--	+
Рекомендации для беременных животных	+	--
Риск возникновения аллергических реакций	-	+

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ПРОБИОТИКОВ

- **адгезивная активность**
- **антимикробная (антагонистическая) активность**
- **нейтрализация токсинов, синтезируемых патогенными бактериями**
- **подавление жизнеспособности патогенных бактерий, изменение их метаболизма**
- **улучшение пищеварения и нормализация моторной функции кишечника** (выработка пищеварительных ферментов – лактазы и др., группы В, никотиновая и фолиевая кислоты, регуляция времени прохождения пищи по желудочно-кишечному тракту за счет участия в метаболизме желчных кислот, ингибции синтеза серотонина)
- **стимуляция иммунитета** (усиливается активность макрофагов, уровень иммуноглобулинов, противоканцерогенное действие и др.)
- **детоксицирующая и защитная роль** (предотвращение негативного влияния радиации, химических загрязнителей пищи, токсичных эндогенных субстратов, непривычной пищи, загрязненной воды - за счет стимулирования иммунного ответа и повышения неспецифической иммунорезистентности, - потенцирования продукции интерферона, интерлейкинов, увеличения фагоцитарной способности макрофагов и др.)

ФОРМА ВЫПУСКА ПРОБИОТИКОВ

- капсулы или пасты для непосредственного орального применения
- порошок, который можно использовать с молоком или кормом
- порошок или гранулы, используемые как готовый корм
- порошок в виде кормовой добавки
- жидкие

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ ПРОБИОТИКОВ

- хронические заболевания желудочно-кишечного тракта (в комплексной терапии)
- дисбактериоз и его профилактика;
- профилактика и комплексное лечение кожных заболеваний (способствует восстановлению шерсти);
- искусственное вскармливание;
- аллергические заболевания различного происхождения (в комплексной терапии);
- период беременности и вскармливания потомства;
- явления диатеза, рахита, анемии;
- метаболический синдром и ожирение (в комплексной терапии);
- бактериальные и грибковые заболевания урогенитального тракта (вульвовагинит, кольпит, кандидоз) (в комплексной терапии);
- поддержание и восстановление микробиоценоза во время и после приема лекарственных средств (антибиотикотерапия, терапия цитостатиками, сульфаниламидами, химиотерапия и т.п.)
- повышение усвояемости кормов и нормализация перистальтики кишечника (при склонности к запорам, поносам);
- профилактика и устранение вредных последствий стрессов (вакцинация, перевод в другую технологическую группу, смена рациона и т.п.),
- профилактика заболеваний печени;
- восстановительный период после хирургического вмешательства;
- повышение общего тонуса и укрепление здоровья животных в целом.

Критерии оценки действия пробиотиков

- улучшение аппетита
- повышение активности животного
- сохранность животных
- заболеваемость
- падеж животных
- анализ фекалий (копрограмма, дисбактериоз)
- клинический и биохимический анализ крови
- бактериологическое исследование патматериала (соскобы с кожи, экссудат и т.д.)