

DOI: 10.37925/0039-713X-2024-3-43-46

УДК 619:615.3+636.4

Пробиотическая кормовая добавка «Цитроспорин»

и ее влияние на биохимический и иммунологический статус свиней на откорме



К.С. ОСТРЕНКО¹, доктор биолог. наук, М.И. КАРТАШОВ², кандидат биолог. наук, ст. научный сотрудник, А.Н. ОВЧАРОВА¹ кандидат биолог. наук, ст. научный сотрудник, Ю.В. ВОЛЧЕНКОВ¹, мл. научный сотрудник, e-mail: ostrenkoks@gmail.com,

¹ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФИЦ животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста,

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии»

В статье приведены данные по исследованию эффективности пробиотической добавки на основе инактивированной биомассы гриба *P.citrinum* и *B.subtilis* на биохимические показатели крови и иммунологический статус у свиней на откорме. Опыт был проведен на 15 помесных боровках (F1:(ДхЛ) в период откорма с начальной живой массой 20–25 кг в возрасте 45 дней. Продолжительность исследования – 45 суток.

Включение в состав полнорационных комбикормов опытных групп растущего откармливаемого молодняка свиней пробиотической добавки «Цитроспорин» на основе *B.subtilis* VKM B-3171D, *B.licheniformis* VKM B-3172D, инактивированной биомассы гриба *P.citrinum* VKM B-4930D обеспечивает увеличение мочевины и креатинина на 20,9% (P<0,05) и 6% соответственно и концентрацию глюкозы – на 13,5% и 25,4% (P<0,05) выше относительно показателей контрольной группы. В ходе исследования было достоверно зафиксировано уменьшение количества сальмонелл и энтерококков в опытных группах, что подтверждает эффективность применения пробиотической добавки «Цитроспорин».

Ключевые слова: пробиотическая добавка, подсвинки, мочевины, креатинин, иммунный статус, глюкоза.

Probiotic feed additive Citrosporin on the biochemical and immunological status in fattening pigs

K.S. OSTRENKO¹, doctor of biological sciences, M.I. KARTASHOV², candidate of biological sciences, senior researcher, A.N. OVCHAROVA¹, candidate of biological sciences, senior researcher, I.V. VOLCHENKOV¹, junior researcher, e-mail: ostrenkoks@gmail.com,

¹All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition – Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry – VIZh named after academician L.K. Ernst, ²All-Russian Research Institute of Phytopathology

The article presents data on the study of the effectiveness of a probiotic supplement based on inactivated biomass of the fungus *R.citrinum* and *B.subtilis* on biochemical blood parameters and immunological status in pigs on feed. The study was conducted on 15 crossbreeds (F1:(DhL) during the fattening period with an initial live weight of 20–25 kg at the age of 45 days. The duration of the study is 45 days.

The inclusion of the probiotic additive Cytosporin based on *B.subtilis* VKM B-3171D, In the composition of full-fledged compound feeds of experimental groups of growing fattened young pigs. *B.licheniformis* VKM B-3172D, inactivated biomass of the fungus *R.citrinum* VKM B-4930D provides an increase in urea and creatinine by 20.9% (P<0.05) and 6%, respectively, and glucose concentration by 13.5% and 25.4% (P<0.05) higher relative to the control group. During the study, a decrease in the number of salmonella and enterococcus in the experimental groups was reliably recorded, which confirms the effectiveness of the use of the probiotic additive Citrosporin.

Key words: probiotic supplement, piggies, urea, creatinine, immune status, glucose.

■ Введение

Пробиотики, содержащие один или несколько живых микроорганизмов, могут оказывать полезный эффект на организм хозяина. Они способны подавлять активность патогенной микрофлоры, проникающей в кишечник, и уменьшать вредные болезнетворные бактерии.

Пробиотики обладают противомикробными свойствами, такими как уменьшение колонизации и выделения сальмонелл, а также снижение колибактериоза после отъема, вызванного энтеротоксигенной кишечной палочкой (ЕТЕС) [8–10]. Пробиотики признаны как одна из наиболее эффективных альтернатив антибиотикам.

Поросята при отъеме подвергаются серьезному стрессу, который приводит к крупным экономическим потерям. Разрушительные симптомы после стресса включают диарею, снижение эффективности переработки корма, потерю веса и в крайних случаях приводят к гибели животных. Пробиотики были предложены и использованы в качестве лучшей альтернативы применению антибиотиков как средство от диареи после отъема и стимуляторов роста.

Было признано, что пробиотики влияют на своих хозяев посредством различных механизмов действия, таких как микробные манипуляции в кишечнике, конкуренция за места адгезии на слизистой оболочке, усиление барьерной функции эпителия кишечника и регуляция иммунной системы. Эти механизмы включают экспрессию генов в специфических тканях, главным образом в кишечнике и печени [1, 3].

Еще один момент, который следует учитывать, – это варибельность реакции на пробиотик в зависимости от типа стада, в которое он вводится. Было исследовано, как пробиотическая стратегия может иметь респондеров и нереспондеров в однородной группе животных, а также как различная микробная среда может определять изменчивость среди стад. Например, было установлено, как генетически обусловленное различное присутствие сахарных комплексов на поверхности кишечника хозяина может способствовать адгезии на гликокаликсе некоторых энтеропатогенов, обладающих специфическими факторами колонизации, и, возможно, комменсальных бактерий. В частности, недавно в микробиоте свиней

были идентифицированы два энтеротипоподобных кластера, которые значительно коррелируют с продуктивностью. Аналогичным образом корреляция пробиотических эффектов с конкретными энтеротипами разумно уменьшила бы варибельность эмпирического использования [4, 6].

Комбинации пробиотиков могут быть многоштаммовыми пробиотиками, содержащими более одного штамма одного и того же вида, либо близкородственных видов (например, *Lactobacillus acidophilus* и *L.casei*), или многовидовыми, содержащими штаммы разных пробиотических видов, принадлежащих к одному или нескольким родам (например, *L.acidophilus*, *Bifidobacterium longum* и *Enterococcus faecium*). Многовидовые пробиотики также связаны с более широким спектром активности (например, ингибирование более широкого спектра патогенных бактерий) и, если они хорошо разработаны, с большей степенью синергизма и симбиоза при сочетании различных пробиотических эффектов [7, 12].

Для усиления эффектов возможно добавление специфических пребиотических субстратов (концепция симбиоза) для избирательного улучшения роста интродуцированного штамма, чтобы способствовать созданию микробиоты, более благоприятной для действия пробиотика [5, 11, 13].

Разработка процедур акклиматизации или защитного покрытия, позволяющего пробиотическим препаратам противостоять агрессии окружающей среды, является многообещающей областью развития для использования их в качестве кормовых добавок. Ежедневное введение свежего пробиотика в виде твердой и жидкой суспензии путем смешивания его с кормом является обычной процедурой в исследовательских испытаниях. Однако, хотя данная стратегия может быть хорошей для повышения жизнеспособности пробиотиков при доставке, это очень трудоемкая процедура, которую сложно реализовать на коммерческих свинофермах. В связи с этим применение сухого препарата явля-

ется наиболее оптимальной стратегией использования пробиотиков в цикле откорма свиней.

Цель исследования – провести опыты по изучению влияния комплексной кормовой добавки «Цитроспорин» на биохимические и иммунологические показатели откармливаемых свиней.

■ Материалы и методы исследования

Физиологические опыты проводились на базе лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии и вивария ВИЖа имени академика Л.К. Эрнста. По принципу параналогов из 15 помесных боровков (F1:(ДхЛ) с начальной живой массой 20–25 кг в возрасте 45 дней, приобретенных в ООО «ЭКО ФЕРМА «Климовская» (Калужская обл.), было сформировано три группы животных по пять голов в каждой – одна контрольная и две опытные. Продолжительность исследования составила 45 суток.

Разработана общая схема опыта, которая представлена в **таблице 1**.

Согласно схеме опыта, животным первой контрольной группы скармливали полнорационный комбикорм без добавления дополнительных кормовых добавок. В опытных группах вводилось 0,5 кг и 1 кг соответственно на 1 т комбикорма пробиотической добавки «Цитроспорин» на основе *B.subtilis* ВКМ В-3171D, *B.licheniformis* ВКМ В-3172D, инaktivированной биомасса гриба *P.citri-num* ВКМ В-4930D.

Основной рацион и условия содержания (температурный, влажностный, световой режим и состав воздуха в помещении) всех групп животных были одинаковы и в пределах зоогигиенических норм.

По окончании опыта из яремной вены была отобрана кровь с дальнейшим определением биохимических и гематологических показателей в лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии ВНИИФБиП на автоматическом биохимическом анализаторе Erba XL 100 (Erba Lachema,

Таблица 1. Схема проведения физиологических исследований

| Группа | Голов в группе | Характеристика кормления |
|------------------------|----------------|----------------------------------------------|
| Предварительный период | | |
| 1-я (контрольная) | 5 | Полнорационный комбикорм (ПК) |
| 2-я (опытная) | 5 | ПК + 0,5 кг «Цитроспорина» на 1 т комбикорма |
| 3-я (опытная) | 5 | ПК + 1 кг «Цитроспорина» на 1 т комбикорма |

Чехия) и автоматическом гематологическом анализаторе Mindray BC-2800 Vet (Mindray, Китай).

Биохимические исследования сыворотки крови включают: аспаратаминотрансферазу (АСТ), аланинаминотрансферазу (АЛТ) – УФ-кинетическим методом; щелочную фосфатазу – кинетическим методом; общий белок – биуретовым методом; альбумины – колориметрическим методом; креатинин – кинетическим методом Яффе; мочевины – ферментативным колориметрическим методом по Бертелоту; глюкозу – ферментативным глюкозооксидазным методом; общий билирубин – количественное определение методом Уолтерса – Джерарда; общий холестерин – ферментативным колориметрическим методом. Из гематологических показателей определяли эритроциты, лейкоциты, гемоглобин, гематокрит.

Были определены показатели неспецифической резистентности подопытных животных. Фагоцитарная активность клеток крови оценивалась прежде всего определением поглощающей и переваривающей способности клеток крови по методу Кост и Стенко. О фагоцитарной способности лейкоцитов крови судили по данным их фагоцитарной активности, параметрам общей фагоцитарной емкости, фагоцитарного числа и индекса, а также показателю завершено фагоцитоза.

Определение микробиологического профиля кишечного содержимого свиней проводилось по методу Коха.

Весь полученный цифровой материал статистически обработан методом вариационной статистики по Стьюденту с использованием программы Microsoft Excel в пределах следующих уровней значимости: $P < 0,05$.

■ Результаты и обсуждение

С целью изучения влияния пробиотической добавки «Цитроспорин» на обменные процессы в организме подопытных животных были проанализированы данные, полученные в ходе биохимических и морфологических исследований крови. Они представлены в **таблице 2**.

Исследуемые нами биохимические и морфологические показатели крови в целом находились в пределах физиологической нормы [2]. Содержание общего белка в сыворотке крови было практически на одном уровне – 68,78–70,32 г/л (при норме 55–82 г/л). У животных контрольной

Таблица 2. Биохимические и морфологические показатели крови подопытных животных ($M \pm m$, $n=5$)

| Показатель | Группа | | |
|-----------------------------|-------------------|---------------|---------------|
| | 1-я (контрольная) | 2-я (опытная) | 3-я (опытная) |
| Общий белок, г/л | 68,90±0,31 | 68,78±0,72 | 70,32±2,55 |
| Альбумин, г/л | 37,90±0,69 | 37,97±0,97 | 37,94±0,45 |
| Глобулин, г/л | 30,81±0,27 | 31,60±0,87 | 32,19±0,89 |
| Кoeffициент А/Г | 1,23±0,14 | 1,20±0,09 | 1,18±0,10 |
| Мочевина, ммоль/л | 5,77±0,18 | 6,23±0,54 | 6,98±0,21* |
| Мочевая кислота, мкмоль/л | 23,99±1,28 | 23,90±1,75 | 23,81±1,53 |
| Креатинин, ммоль/л | 100,69±1,55 | 101,95±1,15 | 106,69±1,04* |
| Билирубин, мкмоль/л | 7,30±0,97 | 7,34±1,21 | 7,37±1,10 |
| АЛТ, МЕ/л | 67,21±6,25 | 64,63±4,91 | 64,54±7,13 |
| АСТ, МЕ/л | 58,68±0,81 | 53,24±0,69 | 58,97±4,88 |
| Щелочная фосфатаза, ммоль/л | 359,53±130,03 | 334,15±12,07 | 349,87±13,82 |
| Холестерин, ммоль/л | 3,05±0,18 | 3,11±0,44 | 3,17±0,22 |
| Триглицериды, ммоль/л | 0,54±0,01 | 0,63±0,09 | 0,61±0,07 |
| Фосфолипиды, ммоль/л | 3,59±0,06 | 3,61±0,22 | 3,74±0,11 |
| Глюкоза, ммоль/л | 5,16±0,17 | 5,86±0,36 | 6,47±0,09* |
| Кальций, ммоль/л | 2,51±0,09 | 2,56±0,02 | 2,75±0,03* |
| Фосфор, ммоль/л | 3,24±0,10 | 3,49±0,17 | 3,62±0,16 |
| Са/Р | 0,77±0,02 | 0,73±0,04 | 0,76±0,04 |
| Магний, ммоль/л | 0,98±0,04 | 0,99±0,26 | 1,00±0,03 |
| Хлориды, мкмоль/л | 93,75±2,41 | 93,42±2,47 | 93,02±2,36 |
| Лейкоциты, 10^9 /л | 14,69±1,92 | 12,35±1,45 | 12,68±1,27 |
| Эритроциты, 10^{12} /л | 9,93±0,23 | 10,50±0,09 | 10,77±0,44 |
| Гемоглобин, г/л | 138,23±7,70 | 143,97±4,90 | 136,63±5,52 |
| Гематокрит, % | 61,23±3,73 | 63,87±1,05 | 61,41±2,52 |

*Здесь и далее: достоверно при $P < 0,05$.

и опытных групп наблюдалась такая же закономерность и в соотношении белковых фракций при некотором снижении альбумин-глобулинового соотношения (А/Г) – 1,18–1,23 во второй и в третьей опытной группе.

Концентрация мочевой кислоты достоверно не различалась у всех групп подопытных животных. Уровень содержания конечных продуктов белкового обмена – мочевины был больше в группах, где применялась пробиотическая добавка «Цитроспорин», что коррелирует с увеличением концентрации креатинина. В третьей опытной группе увеличение мочевины и креатинина было выше на 20,9% и 6% соответственно ($P < 0,05$).

Во второй группе также было зафиксировано увеличение данных показателей. АЛТ – фермент, присутствующий главным образом в клетках печени и почек и в заметно меньших количествах – в клетках сердца и мышц. При поражении клеток ткани печени АЛТ высвобождается в кровоток обычно еще до появления таких характерных симптомов, как желтуха. В связи с этим активность данного фермента используется в качестве показателя повреждений печени. В свою очередь печень участвует в осуществлении многих важных

функций организма – в переработке питательных веществ, производстве желчи, синтезе белков, таких как факторы свертывающей системы крови, а также расщепляет потенциально токсичные соединения до безопасных веществ. Отклонений в основных показателях, отражающих функцию работы печени и сердечной деятельности, выявлено не было (**табл. 2**).

В содержании холестерина, триглицеридов, фосфолипидов достоверных отличий выявлено не было.

В группах, где применялась пробиотическая добавка «Цитроспорин», достоверно зафиксировано увеличение глюкозы. Так, во второй и в третьей опытной группе ее концентрация была достоверно выше ($P < 0,05$) на 13,5% и 25,4% относительно показателей контрольной группы.

Уровень кальция и фосфора был выше у животных опытных групп на 0,25–0,38 ммоль/л по сравнению с контрольными животными, но уровень отношения Са/Р в крови последних был несколько ниже. Уровень магния, хлоридов находился приблизительно на одном уровне.

Анализ гематологических параметров также не показал существенных отличий в содержании эритроцитов, гемоглобина, гематокрита.

Как видно из **таблицы 3**, у животных опытных групп были выше показатели фагоцитарной активности, фагоцитарный индекс, фагоцитарное число. Повышение критериев, определяющих иммунологический статус животных, является ключевым для сохранности поголовья и интенсивности прироста.

В результате исследования кишечной микрофлоры свиней в течение опыта зафиксированы ее изменения, отраженные в **таблице 4**. Установлено, что количество лакто- и бифидобактерий у боровков на конец исследования достоверно не отличалось и было на уровне 11 Ig КОЕ/г.

Анализ полученных данных выявил различия в количественном составе микрофлоры кишечника животных различных групп. Различия в количественном содержании микроорганизмов грибов и эшерихий, стафилококков достоверно не наблюдалось.

В ходе исследования было достоверно зафиксировано уменьшение в опытных группах количества сальмонелл и энтерококков, что подтверждает эффективность применения пробиотической добавки «Цитроспорин».

1. Боголюбова Н.В., Некрасов Р.В., Зеленченкова А.А. Антиоксидантный статус и качество мяса у сельскохозяйственной птицы и животных при стрессе и его коррекция с помощью адаптогенов различной природы: обзор. *Сельскохозяйственная биология*, 2022. Т. 57. №4. С. 628–663.

2. Гусев И.В., Боголюбова Н.В., Рыков Р.А., Левина Г.Н. Контроль биохимического статуса свиней и коров: руководство. М.: ФГБНУ ВИЖ имени Л.К. Эрнста, 2019. 40 с.

3. Клементьев М.И., Чабаев М.Г., Туаева Е.В., Некрасов Р.В. Продуктивный потенциал выращиваемого молодняка свиней при обогащении рационов различными соединениями селена. *Свиноводство*, 2023. №1. С. 35–39.

4. Чабаев М.Г., Цис Е.Ю., Некрасов Р.В., Клементьев М.И. Влияние различных форм селена на продуктивность и обмен веществ откармливаемого молодняка свиней в условиях производства. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*, 2021. №1. С. 55–65.

5. Arnaud E.A., Gardiner G.E., Lawlor P.G. Selected nutrition and management strategies in suckling pigs

Таблица 3. Показатели неспецифического иммунитета подопытных животных ($M \pm m$, n=5)

| Показатель | Группа | | |
|------------|-------------------|---------------|---------------|
| | 1-я (контрольная) | 2-я (опытная) | 3-я (опытная) |
| ФА, % | 48,20±8,20 | 50,49±1,62 | 61,18±3,88 |
| ФИ | 2,92±0,34 | 3,38±0,13 | 3,74±0,14 |
| ФЧ | 1,46±0,39 | 1,67±0,07 | 1,87±0,13 |

Примечание: ФА – процент фагоцитирующих клеток, ФИ – фагоцитарный индекс, ФЧ – фагоцитарное число.

Таблица 4. Состав микрофлоры кишечника опытных свиней ($M \pm m$, n=5)

| Показатель, log | Группа | | |
|-----------------|-------------------|---------------|---------------|
| | 1-я (контрольная) | 2-я (опытная) | 3-я (опытная) |
| Лактобациллы | 11 | 11 | 11 |
| Бифидобактерии | 11 | 11 | 11 |
| Стафилококки | 6 | 6 | 6 |
| Сальмонеллы | 6 | 5* | 5* |
| Энтерококки | 5 | 5 | 4* |
| Грибы | 2 | 2 | 2 |
| Эшерихии | 5 | 5 | 5 |

Выводы

Скармливание молодняку свиней опытных групп пробиотической добавки «Цитроспорин» в различных вариантах не оказало отрицательного действия на состояние здоровья, о чем свидетельствуют биохимические и морфологические

параметры крови, которые находились в пределах физиологической нормы и обеспечивали существенное положительное изменение состава кишечного микробиоценоза, особенно в уменьшении количественных показателей условно-патогенной микрофлоры.

Литература

to improve post-weaning outcomes. *Animals*, 2023. 13(12):1998. DOI: 10.3390/ani13121998.

6. Colson V., Martin E., Orgeur P., Prunier A. Influence of housing and social changes on growth, behaviour and cortisol in piglets at weaning. *Physiol. Behav.*, 2012. 107:59–64. DOI: 10.1016/j.physbeh.2012.06.001.

7. Gresse R., Chaucheyras-Durand F., Fleury M.A., Van de Wiele T., Forano E., Blanquet-Diot S. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: Understanding the keys to health. *Trends Microbiol.*, 2017. 25:851–873. DOI: 10.1016/j.tim.2017.05.004.

8. Heo J.M., Opapeju F.O., Pluske J.R., Kim J.C., Hampson D.J., Nyachoti C.M. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: A review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr.*, 2013. 97:207–237. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2012.01284.x.

9. Kerr B.J., Trachsel J.M., Bearson B.L., Loving C.L., Bearson S.M.D., Byrne K.A., Pearce S.C., Ramirez S.M., Gabler N.K., Schweer W.P., Helm E.T., De Mille C.M. Evaluation of digestively resistant or soluble fibers, short- and

medium-chain fatty acids, trace minerals, and antibiotics in nonchallenged nursery pigs on performance, digestibility, and intestinal integrity. *J. Anim. Sci.*, 2022. 100(11): skac282. DOI: 10.1093/jas/skac282.

10. Klobasa F., Werhahn E., Butler J.E. Composition of sow milk during lactation. *J. Anim. Sci.*, 1987. 64:1458–1466. DOI: 10.2527/jas1987.6451458x.

11. Li J., Li H., Zhou Y., Xiang H., Lv M., Ruan B., Bo Z., Shen H., Xu F., Huang Y., Li L., Sun P. Effects of compound probiotics on cecal microbiota and metabolome of swine. *Animals*, 2023. 13(6):1006. DOI: 10.3390/ani13061006.

12. Pereira W.A., Franco S.M., Reis I.L., Mendonça C.M.N., Piazentin A.C.M., Azevedo P.O.S., Tse M.L.P., De Martinis E.C.P., Gierus M., Oliveira R.P.S. Beneficial effects of probiotics on the pig production cycle: An overview of clinical impacts and performance. *Vet. Microbiol.*, 2022. 269:109431. DOI: 10.1016/j.vetmic.2022.109431.

13. Tang X., Xiong K., Fang R., Li M. Weaning stress and intestinal health of piglets: A review. *Front. Immunol.*, 2022. 13:1042778. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1042778.