

Слямова А.Е., Сарсембаева Н.Б., Усенбаев А.Е.,
Бабалиев С.У., Паритова А.Е.

Казахский национальный аграрный университет

ВЛИЯНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АНТИБИОТИКОВ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ БРОЙЛЕРОВ

Аннотация

В условиях эксперимента трем группам цыплят-бройлеров (n=30) с первого по 42 день до убоя ежедневно задавали ростостимулирующие дозы антибиотиков: амоксицилина, тетрациклина и левомицетина, контрольную группу (n=10) птиц не обрабатывали. Были оценены основные гематологические и биохимические показатели проб крови, отобранные в день убоя. Установлено, что антибиотики способствуют изменению показателей крови, что, в конечном итоге, влияет на общее качество продуктов убоя птицы.

Ключевые слова: антибиотики, бройлеры, гематологические показатели, биохимические показатели.

Введение

В ветеринарной практике применяется широкий спектр антимикробных лекарственных средств для лечения и профилактики заболеваний, вызываемых микроорганизмами [1]. Кроме того, весьма спорным аспектом использования этих препаратов является то, что они нашли применение как кормовые добавки или задаются с питьевой водой в терапевтических и профилактических целях [2, 3, 4], а также для улучшения способности животного конвертировать корма и увеличивать массу тела [6, 7, 8].

Теоретическая вероятность стимулирующего эффекта микробных агентов на прирост животных показана еще в 1943 [9]. Установлено, что ежедневное скармливание пороссятам и цыплятам малых дозировок *Azotobacter*, сопровождающееся взаимодействием этих бактерий с микробной популяцией кишечника [10], способствует ускорению роста и увеличению привеса животных (на 15-20 и 15-30% соответственно) по сравнению с контролем. Ускорение роста животных объясняется наличием стимулянтов в культуре *Azotobacter* [9].

Хотя химические средства антимикробной терапии и их использование в качестве стимуляторов роста имеет существенное значение в поддержании здоровья животных [11, 12], применение антибиотиков, наряду с положительным эффектом, приводит к возникновению и возрастанию устойчивости возбудителей к антибиотикам. Это значительно усложняет лечение инфекционных заболеваний у животных [13], а также они отрицательно влияют на иммуногенез и способствуют сенсбилизации организма человека [14].

Поскольку для человека и животных используются одни и те же классы противомикробных средств, появление и распространение резистентности к противомикробным препаратам бактерий представляет угрозу для здравоохранения и экономики. Для замены препаратов, ставших неэффективными по причине резистентности, разрабатываются новые антибиотики [15].

В последние годы, учитывая угрозы использования в продуктивном животноводстве ветеринарных противомикробных препаратов и возможных негативных последствий для здоровья потребителей, контроль остаточных количеств таких веществ в съедобных тканях животных в ЕС стал обязательным. Предельно допустимые остаточные количества

антибиотиков, безопасных для потребления человеком, в продуктах питания животного происхождения определены Правилами Комиссии (ЕС) № 37/2010 [16].

Целью настоящих исследований являлась оценка влияния остаточных количеств антибиотиков на гематологические и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили на цыплятах-бройлерах кросса «Смена-7» инкубатора птицефабрики «Аллель-Агро» в условиях вивария Казахского Национального Аграрного Университета при клеточном содержании, а также в Лаборатории пищевой безопасности ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт» и Лаборатории физиологии пищеварения РГП «Институт физиологии человека и животных», г. Алматы, Казахстан.

В качестве объектов исследования по принципу аналогов были сформированы четыре группы однодневных цыплят-бройлеров по 10 голов в каждой. Кормление птицы проводили согласно инструкции по индустриальной схеме птицефабрики «Аллель-Агро» без ограничения поения.

Первая группа цыплят – контрольная, получала основной рацион корма без антибиотиков. Второй группе бройлеров, кроме основного рациона, с первого по 41 день ежедневно вводили синтетический антибиотик «Амоксицилин». Бройлерам третьей группы задавали тетрациклин, а четвертой группы – левомицетин. Антибиотики вводили в водном растворе индивидуально, перорально, в рекомендуемых как стимуляторы роста субтерапевтических концентрациях.

Кровь в объеме 9 см³ для гематологических и 3 см³ для биохимических исследований отбирали от каждой особи из яремной вены на 42 день, во время убоя.

Исследования цельной крови, стабилизированной литий-гепарином, проводили на гематологическом анализаторе MELET SCHLOESING MS4-3 с ветеринарным набором (Франция). При этом определяли следующие гематологические показатели: лейкоциты (лимфоциты, моноциты, гранулоциты), эритроциты, гематокрит, концентрация гемоглобина, тромбоциты и тромбокрит.

После свертывания цельной крови отделили сыворотку и проводили исследования на биохимическом анализаторе открытого типа BioChem FC-360 (США) на такие показатели, как общий белок, триглицериды, щелочная фосфатаза, холестерол, глюкоза, мочевины, аланин аминотрансфераза (ALT) и аспартат аминотрансфераза (AST).

Статистическую обработку полученных результатов проводили по односторонней программе ANOVA. Цифровые данные были введены в таблицу EXCEL, результаты считали достоверными при значении $p < 0,001$.

Результаты исследований и их обсуждение

В течение всего эксперимента летальности бройлеров не наблюдали. Визуальное физиологическое состояние и поведенческая реакция цыплят опытных групп не отличались от птиц контрольной группы.

Анализ гематологических параметров показал, что под длительным воздействием субтерапевтических концентраций антибиотиков наблюдаются количественные и качественные изменения некоторых показателей крови бройлеров. Отмечается изменение количества лейкоцитов в сторону уменьшения в случае с амоксицилином ($p < 0,001$) и левомицетином ($p < 0,001$) и увеличения при использовании тетрациклина по сравнению с контрольной группой птицы (табл.1). Антибиотики оказывают значимое воздействие на лейкограмму: под влиянием амоксицилина и тетрациклина увеличивается относительная доля гранулоцитов, а левомицетина – агранулоцитов. Применение амоксицилина способствовало снижению количества эритроцитов ($p < 0,001$) и гемоглобина ($p < 0,001$). Во всех подопытных группах у цыплят наблюдали достоверное уменьшение тромбокрита и количества тромбоцитов, чем в контроле (табл.1).

Таблица 1 – Гематологические параметры крови бройлеров

Параметры	Группы цыплят (n=40)															
	Контрольная (n=10)				Амоксистин (n=10)				Тетрациклин (n=10)				Левомецетин (n=10)			
	M	m	σ	Cv	M	m	σ	Cv	M	m	σ	Cv	M	m	σ	Cv
Лейкоциты, m/mm ³	22.87	1.31	4.14	18.11	18.5*	0.91	2.89	15.57	24.72	0.58	1.83	7.40	21.3*	0.69	2.19	10.25
Эритроциты m/mm ³	2.50	0.04	0.13	5.37	2.25*	0.11	0.35	15.74	2.64	0.05	0.16	6.24	3.25	0.21	0.65	20.14
Гематокрит, %	19.98	0.27	0.87	4.34	19.34	0.60	1.90	9.83	23.5*	0.68*	2.15	9.13	26.6*	1.31	4.16	15.60
Концентрация гемоглобина, g/dL	9.28	0.09	0.28	3.00	8.44*	0.27	0.86	10.18	9.31	0.19	0.62	6.61	10.5*	0.45	1.42	13.54
Тромбоциты, m/mm ³	573.1	43.28	136.8	23.88	475.3	21.25	67.19	14.14	395.3	32.53	102.8	26.02	721.3	54.01	170.7	23.68
Тромбокрит, %	0.53	0.04	0.14	25.46	0.40	0.02	0.06	15.53	0.32*	0.03	0.10	32.53	0.62	0.04	0.14	22.68

Таблица 2 – Биохимические показатели крови бройлеров

Параметры	Группы цыплят (n=40)															
	Контрольная (n=10)				Амоксистин (n=10)				Тетрациклин (n=10)				Левомецетин (n=10)			
	M	m	σ	Cv	M	m	σ	Cv	M	m	σ	Cv	M	m	σ	Cv
Общий белок, g/l	35	0.77	2.45	27.3	0.95	3.02	29.3*	1.28	4.06	32.3	0.99	3.13	2.49	0.01	0.02	2.50*
Триглицериды, mmol/l	1057	33.28	105.25	1134.3	55.25	174.71	804	27.43	86.74	958.3*	10.08	31.89	3.15	0.12	0.37	2.97
Щелочная фосфатаза, U/l	15.05	0.78	2.47	8.15	0.76	2.40	8.05*	1.77	5.60	10.53*	0.91	2.89	1.26	0.16	0.49	1.15
Холестерин, mmol/l	12.7	1.07	3.37	8.8*	0.70	2.20	8.3*	0.3	0.95	8.0*	0.54	1.70	245.3	8.94	28.26	210.8
Глюкоза, mmol/l	245.3	8.94	28.26	210.8	4.62	14.61	238	17.41	55.04	262.3	3.74	11.81	12.7	1.07	3.37	8.8*
Мочевина, mmol/l	12.7	1.07	3.37	8.8*	0.70	2.20	8.3*	0.3	0.95	8.0*	0.54	1.70	245.3	8.94	28.26	210.8
ALT, U/l	12.7	1.07	3.37	8.8*	0.70	2.20	8.3*	0.3	0.95	8.0*	0.54	1.70	245.3	8.94	28.26	210.8
AST, U/l	12.7	1.07	3.37	8.8*	0.70	2.20	8.3*	0.3	0.95	8.0*	0.54	1.70	245.3	8.94	28.26	210.8

M – среднее, m – стандартная ошибка, σ – стандартное отклонение, *- p<0,001

Таким образом, полученные результаты позволяют утверждать, длительное применение стимулирующих дозировок антибиотиков способствует изменению в кроветворной системе птицы и снижают общую резистентность организма.

В результате биохимических исследований были выявлены изменения в показателях крови у цыплят-бройлеров, которым задавали антибиотики.

Важным параметром для диагностики заболеваний, связанных с нарушением метаболизма является содержание общего белка в сыворотке крови. По результатам исследования отмечено, что его количество у птицы контрольной группы было достоверно выше на 22%, чем в группе птиц, которой задавали амоксистин ($p \leq 0,001$), на 16% - на диете с тетрациклином ($p \leq 0,001$) и на 8% - с левомецетином. Эти изменения могут свидетельствовать о нарушении белкового обмена.

Уровень углеводного обмена определяли по содержанию глюкозы в сыворотке крови. К моменту убоя у контрольных цыплят уровень глюкозы был также достоверно выше ($p \leq 0,001$) на 45,8%, чем в группе амоксистина, на 46,5% - тетрациклина и на 30% - в группе левомецитена.

В наших исследованиях уровень холестерина и триглицеридов в контрольной и опытных группах цыплят не отклонялся от физиологической нормы ($p \leq 0,01$).

При оценке активности трансаминаз установили, что активность ALT в крови бройлеров, получавших антибиотики достоверно снизилась на 45,8% в опытной группе, получавшей амоксистин, на 34,6% в группе тетрациклина и на 37% в группе левомецитена. Активность AST в группе, которой давали амоксистин, уступала контрольной на 14,1%, в группе тетрациклина – на 11,1% и левомецитена - на 13,5% (табл. 2).

Известно, что проблема гуманного использования антибиотиков приобрела значимость на глобальном уровне, и Всемирная организация здравоохранения с одобрения Продовольственной и сельскохозяйственной организацией (FAO) ООН и Международного эпизоотического бюро (OIE) рекомендовало внедрению общие принципы политики по сдерживанию резистентности микробов против антибактериальных препаратов у продуктивных животных [17]. Эти принципы включают исключение применения в животноводстве антибиотических стимуляторов роста, которые используются для лечения человека, если не осуществляется оценка рисков [18]. Кроме того, на национальном уровне рекомендуется проводить исследования по оценке рисков и организацию программ по мониторингу используемых антибиотических ростовых стимуляторов и резистентности антибиотиков от продуктивных животных [17].

Последствия применения антибиотиков разнообразны и проявляются в виде нарушений функций, как отдельных органов, так и систем органов. Кроветворная система является одной из наиболее чувствительных. Процесс кроветворения в организме осуществляется непрерывно, а молодые делящиеся клетки чувствительны к действию препаратов [19].

Токсический эффект лекарств на процесс гемопоэза вызывает изменения параметров крови. Например, хлорамфеникол вызывает лейкопению. Применение амоксициллина, являющегося составной частью синтетического антибиотика «Амоксицилин», способствует возникновению нейтропении и эозинофилии. При использовании тетрациклина наблюдали возрастание трансаминаз (AST и ALT) крови и щелочных фосфатаз [12].

Полученные в результате настоящих исследований данные позволяют утверждать, что ростостимулирующие дозировки антибиотиков (амоксицилин, левомецитен, тетрациклин) действуют тоже негативно и меняют гематологическую, а также биохимическую картину крови, что связано с отрицательным влиянием этих ксенобиотиков на печень и другие внутренние органы цыплят-бройлеров.

Выводы

Использование ростостимулирующих доз амоксицилина, тетрациклина и левомецитена при откорме цыплят-бройлеров способствует изменению гематологических

и биохимических показателей крови, что обуславливает снижение иммунного статуса вследствие нарушения кроветворной системы и функций печени и, в конечном итоге, влияет на общее качество продуктов убоя птицы.

Литература

1. *Singer R.S., Finch R., Wegener H.C., Bywater R., Walters J., Lipsitch M.* Antibiotic resistance - the interplay between antibiotic use in animals and human beings//*Lancet Infect. Dis.*- 2003. – V.3. – P.47–51.
2. *Dantas G., Morten O.A., Rantimi D.O., George M.*// *Bacteria Subsisting on Antibiotics. Science.* -2008. –V.320. – P.100-103.
3. *Blasco C., Torres C. M., & Pico Y.* Progress in analysis of residual antibacterials in food//*Trends in Analytical Chemistry.* – 2007. – V. 26.- P.895–913.
4. *Fabrega A., Sanchez-Céspedes J., Soto S., & Vila J.* Quinolone resistance in the food chain. *International Journal of Antimicrobial Agents.* - 2008. – V. 31.- P.307–315.
5. *Morales-Gutierrez F.J., Barbosa J., Barron D.* Metabolic study of enrofloxacin and metabolic profile modifications in broiler chicken tissues after drug administration//*Food Chemistry.* - 2015.- V. 172. – P.30–39.
6. *Turnidge J.,* Antibiotic use in animals—prejudices, perceptions and realities//*J.Antimicrob. Chemother.* -2004.- V. 53.- P. 26–27.
7. *Aarestrup F.M.,* Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacterial of animal origin//*Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* - 2005.-V. 96.- P.271–281.
8. *Martins da Costa P., Bica A., Vaz-Pires P., Bernardo F.* Changes in antimicrobial resistance among faecal enterococci isolated from growing broilers prophylactically medicated with three commercial antimicrobials. *Preventive Veterinary Medicine.* - 2010. – V.93. – P.71–76.
9. *Федоров А.А.* Жизнь растений. В 6-томах.- 1-том. – С. 428-429.
10. *Dibner J.J. and Richards J.D.* Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action//*Poult. Sci.* - 2005.- V. 84.- P.634–643.
11. *Bywater R.J.* Veterinary use of antimicrobials and emergence of resistance in zoonotic and sentinel bacteria in the EU//*J. Vet. Med. B: Infect. Dis. Vet. Public Health.*- 2004. – V.51.- P. 361–363.
12. *Prescott J.F.* Antimicrobial use in food and companion animals//*Anim. Health Res.* - 2008. - Rev. 9.- P.127–133.
14. *Навашин С.М., Фомина И.П.* Рациональная антибиотикотерапия. М.:Медицина, 1982.- С. 421-427.
15. *Абдуллаев А.М.* Влияние биологически активных соединений (L-лизин и лактобифадол) на естественную резистентность и продуктивность цыплят-бройлеров. - Дис. ... канд. биол. наук. – М., 2006. - 117 с.
16. *World Health Organization.* Critically important antimicrobials for human medicine: categorization for the development of risk management strategies to contain antimicrobial resistance due to non-human antimicrobial use. - Report of the 2nd WHP Expert Meeting, 29-31 May 2007, Copenhagen - http://www.who.int/foodborne_disease/.
17. *World Health Organization.* Document WHO/CDS/DIP/ZFK//Proceedings of the Joint FAO/OIE/WHO expert workshop on non-human antimicrobial usage and antimicrobial resistance: Scientific assessment. - Geneva, 2004. – P. 1–71.
18. *World Health Organization.* WHO Global Principles for the Containment of Antimicrobial Resistance in Animals Intended for Food. - Document WHO/ CDS/ CSR/ APH/ 2000. - Geneva, 2000.- P.1–23.

19. *Stolker A.M., & Brunkman U.A.* Th. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals-a review//J. Chromatography. - 2005. - V. 1067.- P.15–53.

Слямова А.Е., Сарсембаева Н.Б., Усенбаев А.Е., Бабалиев С.У., Паритова А.Е.

АНТИБИОТИКТЕРДІҢ ҚАЛДЫҚ МӨЛШЕРЛЕРІНІҢ БРОЙЛЕР ҚАНЫНЫҢ ГЕМАТОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ БИОХИМИЯЛЫҚ ПАРАМЕТРЛЕРІНЕ ӘСЕРІ

Аңдатпа

Эксперимент жағдайында үш бройлер балапандар топтарына (n=40) бірінші күннен бастап 42 күнгі сойысқа дейін амоксицилин, тетрациклин және левомицетин антибиотиктерінің өсуді стимулдайтын мөлшерлері берілді. Құстың бақылаудағы тобы (n=10) дәріленген жоқ. Құстың сойыс күні алынған қанының негізгі биохимиялық және гематологиялық көрсеткіштері анықталды. Антибиотиктер қанның зерттелінген көрсеткіштерін өзгертіп, құстың сойыс өнімдерінің жалпы сапасына әсер ететіні анықталды.

Кілт сөздер: антибиотиктер, бройлерлер, гематологиялық көрсеткіштер, биохимиялық параметрлер.

Slyamova A.E., Sarsembayeva N.B., Ussenbayev A.E., Babaliev S.U., Paritova A.E.

INFLUENCE OF RESIDUAL AMOUNTS OF ANTIBIOTICS ON THE BLOOD'S HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF CHICKEN BROILERS

Summary

In the experiment, from the first to the 42 day before the slaughter, three groups of broiler chickens (n = 30) were feed by growth stimulating dose of antibiotics: amoxystin, tetracycline and chloramphenicol, a control group of birds (n = 10) was not treated. There were evaluated the main hematological and biochemical parameters of blood samples collected on the day of slaughter. It was found that antibiotics caused changes of blood parameters, which ultimately affected the overall quality of slaughtered birds' products.

Keywords: antibiotics, broilers, haematological parameters, biochemical parameters.