

Calf Notes.com

Заметка о телятах №89. Оценка применения альтернатив антибиотикам

Научная литература и популярная пресса полны статей о продуктах, якобы представляющих собой идеальную альтернативу антибиотикам с точки зрения стимуляции роста и лечения заболеваний. Авторы подобных работ, как правило, заявляют о наличии неопровержимых доказательств того, что рассматриваемый ингредиент/продукт является наилучшей альтернативой. К сожалению, многие из таких исследований — даже опубликованные в научной прессе — организуются, проводятся, анализируются или обобщаются некорректно и, следовательно, не могут претендовать на подтверждение заявленной эффективности продукта.

Исследования по определению потенциальной ценности противомикробной альтернативы должны быть надлежащим образом организованы для правильной интерпретации положенных в основу биологических процессов, которые могут происходить (или не происходить) в организме животного. Любое исследование по оценке альтернативных противомикробных препаратов должно охватывать ряд важных аспектов. Это может показаться «очевидным», но во многих работах не раскрыт один или несколько из этих факторов. Следовательно, невозможно в действительности узнать, насколько достоверны наблюдаемые результаты. Как правило, в отношении отчетов об исследованиях, которые включены в научную литературу (т. е. рецензируемые журнальные статьи), имеется большая вероятность того, что они были проведены, проанализированы и представлены надлежащим образом. Однако это не всегда так. Публикация в научном журнале не гарантирует, что полученные результаты будут применимы в любой ситуации, и даже не является гарантией их достоверности. Ниже перечислены факторы, которые имеют решающее значение.

Отрицательный и положительный контроль. Для понимания эффекта применения предлагаемой противомикробной альтернативы необходимо задействовать механизмы отрицательного и положительного контроля. «Отрицательный» контроль, т. е. отсутствие антибиотика или тестируемого продукта в корме, подскажет исследователю, была ли реакция на какое-либо лечебное воздействие. Иногда в ходе исследований у животных не наблюдается сколь-нибудь значительного эффекта от экспериментального лечения — даже антибиотиками. Обычно это происходит, когда животные здоровы (имеют адекватный уровень пассивного иммунитета) и подвергаются лишь незначительному воздействию микробной нагрузки. Ожидать, что противомикробные препараты улучшат состояние здоровья или будут способствовать более быстрому росту животных с адекватным уровнем иммунитета, которому ничто не угрожает, не приходится. К сожалению, некоторые авторы не использовали отрицательный контроль в своих исследованиях. При этом они заявляют об отсутствии существенной разницы между эффектом от лечения тестируемым продуктом и противомикробным препаратом, и приходят к заключению, что тестируемый продукт способен заменить противомикробный препарат. Увы, это может быть совсем не так. На самом деле может оказаться, что оба варианта лечения не имели должного эффекта, потому что животные никоим образом не подвергались заражению. Без отрицательного контроля невозможно сказать, работает ли продукт вообще.

Положительный контроль проводится путем добавления антимикробного вещества в корм в стандартном для отрасли количестве, при условии, что антибиотик произведен, подготовлен и скармливается животным согласно принятым в отрасли стандартам. Лечение

противомикробным препаратом обычно является частью любого подобного исследования, но важно убедиться, что эксперимент проводился таким образом, чтобы обеспечить возможность получения корректных результатов. Включение противомикробного препарата в рацион в неадекватной дозе или его неправильное скармливание, возможно, позволит исследователю получить статистически значимый результат — но будет ли такой результат иметь биологическое значение?

Достаточность объема выборки животных. Это очень распространенная проблема многих исследований, в которых сравнивают терапевтические диеты. Во многих случаях для исследований отбирают телят, достигших определенного возраста в днях после рождения, и кормят их определенным образом в течение нескольких дней или недель. В условиях небольших хозяйств организация подобного эксперимента таким образом может занять не один год, если необходимо обеспечить большое количество животных. Поэтому исследователи ограничиваются количеством телят, которое «продиктовано» возможностями сезона отела, рамками учебного года или исследовательской программы аспиранта, не принимая во внимание статистические последствия такого решения. Фактическое количество животных, необходимое для обнаружения статистически значимого эффекта, зависит от условий, методов лечения и диапазона изменений в проводимых измерениях. Существуют определенные методы, с помощью которых можно рассчитать необходимое для исследований количество животных. Они называются «расчетами статистической мощности», и информацию о них можно найти в большинстве учебников по статистике.

В целом, однако, по нашему опыту, для выявления значительных различий в ходе большинства исследований при измерении показателей роста, потребления и эффективности, а также состояния здоровья непосредственно на ферме (показатели кала, ректальная температура и т. д.) в наших условиях необходимо задействовать как минимум 20 телят на метод терапевтического воздействия. Маловероятно, что в экспериментах с участием менее чем 20 телят на метод могут наблюдаться биологически значимые различия, и следует очень осторожно подходить к интерпретации данных без какого-либо указания количества телят на метод лечения.

Указание оценки состояния пассивного иммунитета животных. Биологический отклик на противомикробный препарат или его альтернативу в значительной степени зависит от состояния пассивного иммунитета животного. Эффект от терапевтических диет у телят с высоким уровнем пассивного иммунитета будет сильно отличаться от эффекта, наблюдаемого у телят, не получавших молозива. Оценить уровень иммунитета можно путем измерения общего белка в сыворотке или плазме, иммуноглобулина G (IgG) или другого индикатора в крови (например, тестом с сульфатом цинка). В любом случае указание оценки «отправного статуса» животных, задействованных в исследовании, важно для понимания наблюдаемых результатов.

Указание оценки степени воздействия на иммунитет животных. Эта сфера несколько более субъективна, но ее можно резюмировать с помощью следующей аналогии. Эффект от лечения терапевтической диетой у телят, которых сразу после рождения продали и доставили на грузовике в аукционный зал, а затем и в пастбищное хозяйство, и которые на протяжении пары дней не получали молозива, воды или молока, скорее всего, будет отличаться от эффекта у телят, родившихся в молочном хозяйстве, выкормленных большим количеством высококачественного молозива и находившихся в одном месте на протяжении всего эксперимента. Состояние телят до исследования иногда может влиять на исследование больше, чем само экспериментальное лечение. Информация о состоянии подопытных животных, участвующих в исследовании с применением терапевтических диет, так же важна, как и знание о самих методах лечения.

Некоторые исследователи пытаются взять под контроль степень воздействия на иммунитет, воспользовавшись методом внешнего воздействия. При этом обычно животным скармливают экспериментальные препараты в течение определенного периода времени, а затем организуют их пероральное заражение патогеном, таким как *E. coli*, сальмонелла, криптоспоридия и т. д. Такие исследования обычно более информативны, чем исследования с использованием «естественного воздействия». Однако важно выбрать правильный микроорганизм и дозировку, и четко обозначить их в работе. Многие отчеты об исследованиях содержат слишком мало данных для понимания природы организма, использованного в исследовании.

Измерения, позволяющие обнаружить различия. Это так просто, что даже звучит глупо. Однако во многих исследованиях измеряются неправильные вещи. В ходе исследований на телятах, как правило, измеряют такие показатели, как потребление молока, стартера и сена (если его дают в корм), масса тела, конверсия корма (прирост живой массы / потребление) и показатели кала. Larson с соавторами (1977) предложили более единообразные методы измерения показателей кала и других показателей. Однако во многих случаях эти измерения, хотя их и легко определить, не помогают выявить биологический эффект от разных видов лечения. Потребление кормов, особенно молока или заменителя молока, как правило, является неподходящим показателем, поскольку в большинстве случаев исследователь сам определяет необходимое количество заменителя молока. Когда телят кормят ограниченным количеством (обычно 1 фунт или 454 грамма) сухого заменителя молока в день, различия в потреблении почти всегда очень малы. Будет ли значимым различие между потреблением 454 или 453 грамм в день? Даже если такое различие статистически значимо, имеет ли оно биологическое значение?

Показатели живой массы и среднесуточного привеса находятся под влиянием множества различных переменных в рамках эксперимента. К ним относятся, например, используемые рационы и методы кормления, погодные условия, иммунный статус животных, наличие воды, время дня при взвешивании и многие другие факторы. Живая масса и привес обычно измеряются с точностью до 0,5 или 1 фунта (а в некоторых случаях — с точностью до 5 фунтов!). При этом в начале исследования вес телят меняется незначительно, поэтому в измерениях присутствует значительный процент ошибок. Такие данные сложно интерпретировать. Позднее, когда телята начнут прибавлять более 1 фунта в день, процент ошибки в измерениях уже не будет иметь такого большого значения. В то же время по мере развития рубца у телят все большее значение приобретает фактор содержимого кишечника. Потребление большого количества воды или корма или выделение большого количества фекалий незадолго до взвешивания может повлиять на точность измерения МТ. В этой связи целесообразно организовать процедуру взвешивания телят в одно и то же время каждый день, чтобы свести к минимуму влияние факторов кормления и наполненности кишечника.

Еженедельно измерять и фиксировать изменения роста или обхвата груди теленка не имеет смысла. В большинстве случаев в условиях хозяйства невозможно измерить те изменения, которые происходят в росте животного в течение недели. Намного более целесообразно проводить измерения один раз в месяц или каждые три месяца.

В итоге мы должны быть уверены, что измерения, которые мы проводим, соответствуют ожидаемому ответу. При изучении эффекта от лечения заменителями противомикробных препаратов очень важно оценить некоторые показатели здоровья животных. В этом случае показатели состояния здоровья животного гораздо более информативны, чем многие показатели «продуктивности». Важным показателем для оценки эффекта от применения кормовой добавки, призванной заменить антибиотики, может быть количество потребовавшихся терапевтических ветеринарных процедур. При этом, однако, важно предоставить четкий и последовательный

протокол применения всех лекарств, чтобы понять, как они использовались. Конечно, ключевым моментом является количество падших за время исследования телят. Надлежащая информация о вскрытии для определения причины падежа важна для понимания того, почему животное пало и как экспериментальное лечение могло на это повлиять. Измерение более сложных показателей, таких как концентрация гормонов стресса, позволяет получить представление о физиологических процессах в организме животного.

Полное описание используемых методов. Очень большое количество работ содержит лишь отрывочные описания того, как проводилось испытание. Читатель, в свою очередь, также слишком часто пропускает информацию об используемых методах, полагая, что и так понимает, «как проводятся испытания». Это большая ошибка. Как потребитель продуктов и информации, он вправе требовать полного описания материалов, использованных в исследовании. Как правило, материалы в таких работах должны быть изложены настолько подробно, чтобы достаточно опытный человек мог повторить исследование, опираясь на имеющиеся в исследовании данные. Слишком легко «скрыть» важные детали, которые сильно влияют на интерпретацию данных. Порой даже в научных статьях отсутствуют необходимые подробности, чтобы можно было судить о достоверности и применимости данных.

Осторожно, средние значения. Распространенная ошибка исследователей — тратить слишком много времени на поиск различий *между* средними и слишком мало времени *на* изучение самих средних. Исследователям был внушен принцип примата поиска статистических различий — если нет статистических различий, не о чем и говорить. Но когда ЕСТЬ различия, то только о них и говорится. Возьмем пример из «реальной жизни». Группа телят закуплена и доставлена в наш исследовательский центр. Мы кормим их по одной из двух (без добавления антибиотика или с ним) традиционных программ кормления заменителем молока — 454 г/день продукта, в составе которого 20% сырого белка и 20% жира. В течение 56 дней мы измеряем потребление, рост и т. д. Обнаруживаем значительную разницу в темпах роста в конце 56-дневного экспериментального периода. Отмечаем, что в конце эксперимента прирост МТ вырос на 25%! Разве это не чудесно? Однако мы не учитываем тот факт, что на протяжении двух месяцев телята набирали в среднем только по 100 грамм против 125 грамм прироста МТ в день. Мы всецело поглощены чудом статистической значимости и не отдаем себе отчета в том, что такой низкий прирост живой массы в ходе эксперимента можно было получить только при очень неумелом обращении с животными в хозяйстве либо у больных телят.

Итак, в работе следует не только представить различия между значениями, которые были измерены, но также учесть, о чем свидетельствуют эти значения. Если мы сами выращиваем телят, необходимо сравнивать показатели экспериментальных животных с показателями наших собственных животных. Насколько представленные результаты близки к тому, что мы сами ожидали бы получить в ходе своей деятельности? Насколько они отражают реальность? Это все важные вопросы, которые могут повлиять на интерпретацию наших данных.

Только положительный результат? Я уже упоминал об этой распространенной проблеме ранее. Слишком часто нам сообщают только о том, какой «эффект» был получен от рассматриваемого продукта. И совсем не часто нам говорят, что продукт не сработал. Действительно, эта проблема очень часто встречается в научной литературе. Если не удалось найти нечто «иное», многие авторы не считают эксперимент заслуживающим внимания. Хотя такие эксперименты весьма информативны — при правильном их проведении — когда не выявляют существенных различий между методами лечения. Нет никаких сомнений в том, что ни один продукт или концепция не могут срабатывать всегда, при любых обстоятельствах и при любых условиях. В случае потенциальных альтернатив антибиотикам многие испытания «окончатся провалом» из-за

недостаточного воздействия на иммунитет. Ведь даже скармливание антибиотиков не всегда дает положительный результат. Когда вам рассказывают только об испытаниях, показавших отличные положительные результаты потенциальной альтернативы антибиотикам, не забудьте уточнить: «А где остальные данные?».

Правильный статистический анализ данных. Это та часть работы по проведению научных исследований, которой больше всего злоупотребляют. Статистика — это инструмент, который помогает исследователям проводить исследования, систематизировать данные, анализировать результаты и делать выводы, основанные на вероятности. К сожалению, во многих, если не в большинстве исследований, используются ограниченные — иногда элементарные — статистические модели и анализ, которые не способствуют правильному пониманию данных. Это особенно верно, когда измерения на животных производятся неоднократно. Например, массу тела телят во время исследования измеряют еженедельно. Потребление корма и молока измеряют ежедневно. Такой способ проведения исследования требует более сложного метода анализа, чем рассмотрение данных за каждую неделю по отдельности. Использование методов разделения средних, таких как критерий Дункана или Тьюки, часто не дает должного ответа на возникающие вопросы. Поэтому очень важно использовать правильные модели. В случае сомнений перед проведением исследования следует проконсультироваться со специалистом по статистике!

Остерегайтесь обобщений. Слишком многие исследования завершаются утверждением, что «эти данные показывают, что [добавка X] может заменить противомикробные препараты в заменителе молока для телят». Такие обобщения опасны и обычно неуместны. Важно помнить, что исследования проводятся в контролируемых условиях, во многих случаях — в искусственных условиях. Эти условия могут отражать или не отражать реальную ситуацию в отрасли или на конкретном хозяйстве. Оценка того, может ли добавка заменить антибиотики, зависит от многих факторов (включая многие из упомянутых выше), которые часто остаются неизменными в экспериментальных испытаниях. Почти всегда необходимо дополнять такие заявления фразой «В условиях данного исследования применение [добавки X] в заменителях молока для телят привело к результату, аналогичному использованию противомикробных препаратов».

Автор: д-р Джим Кигли (10 ноября 2002 года).

© Д-р Джим Кигли, 2002

Calf Notes.com (<http://www.calfnotes.com>)

© Д-р Джим Кигли, 2002

Calf Notes.com (<http://www.calfnotes.com>)