

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ШТАММОВ-КОМПОНЕНТОВ БИОПРЕПАРАТА, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ЭНДОМЕТРИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

А. Н. Михалюк¹, А. А. Козел¹, Л. С. Козел¹, Н. А. Головнева²

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,

г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by);

² – Институт микробиологии НАН Беларуси

г. Минск, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 220141,

г. Минск, ул. акад. В. Ф. Купревича, 2; e-mail: microbio@mbio.bas-net.by)

***Ключевые слова:** штаммы лактобацилл и лактококков, лабораторные животные, антагонизм, безвредность.*

***Аннотация.** Штаммы лактобацилл *Lactobacillus ramosus* М8, *Lactobacillus fermentum* М9, *Lactobacillus plantarum* HE2, а также штамм лактококков *Lactococcus lactis* АВ-32, предоставленные сотрудниками Института микробиологии НАН Беларуси, является непатогенными и безвредными для лабораторных животных, не обладают токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.*

При испытании эффективности пробиотического биопрепарата установлено, что наиболее выраженными антагонистическими свойствами по отношению к возбудителям эндометритов обладают бактериальные консорциумы № 4, 7 и 8.

TOXICOLOGICAL STUDIES OF BIOPREPARATION COMPONENT STRAINS. INTENDED FOR PREVENTION AND COMPLEX TREATMENT OF BOVINE ENDOMETRITIS

A. N. Mikhalyuk¹, A. A. Kozel¹, L. S. Kozel¹, N. A. Golovneva²

¹ – EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by);

² – Institute of microbiology

Minsk, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 220141, Minsk, st. of the academician V. F. Kuprevich, 2; e-mail: microbio@mbio.bas-net.by)

***Key words:** strains of lactobacilli and lactococcus, labora animals, antagonism, harmless.*

Summary. *Lactobacillus ramosus M8, Lactobacillus fermentum M9, Lactobacillus plantarum HE2, Lactococcus lactis strain Lactococcus lactis AB-32, provided by the staff of the Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, is non-pathogenic and safe for laboratory animals, has no toxicity and is not allergic. When testing the effectiveness of probiotic bioprepara, it was found that bacterial consortium Nos. 4, 7 and 8 have the most pronounced antagonistic properties with respect to endometrite agents.*

(Поступила в редакцию 28.05.2020 г.)

Введение. Одной из основных задач современного рентабельного молочнотоварного комплекса является обеспечение собственного воспроизводства стада, позволяющего не только производить ремонт, но и увеличивать поголовье. Такие факторы, как малоплодие, плохо синхронизированная половая охота и гинекологические заболевания у коров наносят ощутимый экономический ущерб. Современные промышленные технологии производства молока ставят коров в жесткие условия эксплуатации. В частности, повышение их молочной продуктивности формирует предрасположенность к гинекологическим заболеваниям и связанному с ними бесплодию. Повышение и удержание на высоком уровне воспроизводительной способности коров должно быть в центре внимания науки и практических работников животноводства, т. к. опыт крупных молочных комплексов показывает все возрастающий разрыв между молочной продуктивностью и воспроизводительной способностью коров [1].

В настоящее время отечественный и мировой опыт развития молочного скотоводства больше уделяет внимания стабилизации поголовья молочных коров, повышению интенсивности его использования, на росте молочной продуктивности за счет осуществления целого комплекса зоотехнических, организационных и экономических мероприятий [2]. По имеющимся статистическим данным на промышленных животноводческих комплексах, на специализированных фермах, а также среди животных на приусадебных хозяйствах на незаразную патологию приходится до 94-98 % всех случаев заболеваемости. Среди них частота возникновения бесплодия по причине развития воспалительных процессов в половых органах может достигать до 24,2 %. Воспалительные процессы возникают в результате проникновения патогенных микроорганизмов в половой аппарат из окружающей среды или через кровь, при заболеваниях молочной железы, сердечно-сосудистой системы и других органов [3].

Переболевание животных эндометритом увеличивает продолжительность от отела до оплодотворения, что отражается на эффективно-

сти искусственного осеменения и сводит на нет проводимые мероприятия, направленные на улучшение положения по воспроизводству стада.

Поэтому поиск эффективных в условиях производства способов терапии коров при острых послеродовых эндометритах и профилактики их возникновения требует постоянного изучения.

Цель работы – провести токсикологические исследования штаммов-компонентов биопрепарата, а также испытать эффективность пробиотического биопрепарата.

Материал и методика исследований. Определение безопасности (безвредности) штаммов лактобацилл *Lactobacillus ramosus* M8, *Lactobacillus fermentum* M9, *Lactobacillus plantarum* HE2, а также штамма лактококков *Lactococcus lactis* AB-32 проводили на беспородных белых крысах с начальной массой тела 210-250 г. Для проведения опыта по принципу пар-аналогов подбирали клинически здоровых крыс, которые были распределены на 5 групп (4 опытных и 1 контрольная) по 10 особей в каждой. Опыт проводился согласно приведенной схеме (таблица 1). Животных содержали в пластиковых клетках в условиях искусственного освещения при температуре 20-22 °С и относительной влажности 60-65 % на подстилке из древесных стружек, простерилизованных в сухожаровом шкафу.

Таблица 1 – Схема опыта

Группы	Кол-во животных в группе, гол.	Продолжительность опыта, дней	Условия проведения опыта
Контрольная	10	14	ОР (основной рацион)
Опытная 1	10	14	ОР + <i>Lactobacillus ramosus</i> M8
Опытная 2	10	14	ОР + лактококков <i>Lactococcus lactis</i> AB-32
Опытная 3	10	14	ОР + <i>Lactobacillus fermentum</i> M9
Опытная 4	10	14	ОР + <i>Lactobacillus plantarum</i> HE2

Животные получали стандартный рацион вивария и воду. Кормление производили 1 раз в день в утренние часы, замену подстилки – 3 раза в неделю. За 12 ч до забоя животных лишали пищи. Контрольные животные получали лабораторный корм, крысам опытных групп дополнительно выпаивали культуры лактобацилл и кокков, предварительно разбавив их питьевой водой в соотношении 1 : 10 в дозе 3 мл на голову в сутки. Скармливание крысам общего рациона и изучаемых культур осуществляли в течение 14 сут с последующим наблюдением за лабораторными объектами.

Контроль за сохранностью и падежом осуществляли ежедневно. Для определения токсигенности культуры лактобацилл и лактококков вводили крысам (4-5 голов) в области стопы задней правой лапки в дозе 0,05 мл, в качестве контроля использовали стерильную питатель-

ную среду, используемую для культивирования штаммов лактобацилл и лактококков, которые вводили в области стопы задней левой лапки в дозе 0,05 мл. Для определения аллергенности изучаемые штаммы лактобацилл и лактококков вводили крысам внутривожно в дозе 0,05 мл в течение 4 сут. Для определения токсичных свойств штаммы лактобацилл и лактококков вводили белым крысам внутривентриально в дозе 0,5 мл. За животными вели наблюдение в течение 14 дней.

Во время эксперимента учитывались следующие показатели: внешний вид, поведение, потребление корма и воды, изменение массы тела, морфологические и биохимические показатели крови, патоморфологические изменения органов.

В конце опыта лабораторные животные подвергались эвтаназии путем декапитации и вскрытию. При вскрытии органы выделялись единым органомкомплексом с последующим взвешиванием отдельных органов и визуальной оценкой их состояния.

Эффективность пробиотического биопрепарата оценивали по антагонистической активности отобранных на втором этапе исследований консорциумов молочнокислых бактерий по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам – потенциальным возбудителям эндометрита. С этой целью из экссудата, полученного из матки коров с признаками гнойной, катаральной и гнойно-катаральной форм эндометрита, выделяли чистые культуры микроорганизмов – потенциальных возбудителей эндометрита, осуществляли их посев на питательные среды сплошным газоном, в среде делались углубления, куда вносились представленные лабораторией молочнокислых и бифидобактерий Института микробиологии НАН Б бактериальные консорциумы в объеме 25 мкл. Антагонистическую активность оценивали по зонам угнетения роста разных видов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате исследований установлено, что испытываемые штаммы лактобацилл *Lactobacillus ramosus* M8, *Lactobacillus fermentum* M9, *Lactobacillus plantarum* HE2, а также штамм лактококков *Lactococcus lactis* AB-32 не проявляли токсического действия на организм крыс. Гибели лабораторных животных и клинически проявляющихся изменений их физиологического состояния при использовании испытываемых штаммов бактерий не выявлено. Подопытные животные хорошо переносили исследуемые штаммы культур молочнокислых бактерий, они были клинически здоровы в течение всего эксперимента, не отмечалось нарушений в поведении, приеме корма и воды, аналогично контрольным группам. На протяжении всего опыта животные во всех группах имели хорошую

упитанность и удовлетворительное общее состояние. Подопытные животные были подвижны и активны, шерстный покров был гладким и отличался характерным блеском, слизистые оболочки бледно-розового цвета. При патологоанатомическом изучении внутренних органов животных и изменений в их структуре не выявлено. Внутренние органы располагались анатомически правильно, жидкость в плевральной и брюшной полостях отсутствовала, цвет органов и тканей соответствовал норме. Просвет трахеи и бронхов свободен, ткань легких имела розовый цвет. Слизистая оболочка, выстилающая желудок и кишечник после использования исследуемых штаммов молочнокислых бактерий, была без видимых изъявлений и кровоизлияний, серо-розового цвета. Печень, поджелудочная железа, почки, сердце экспериментальных животных были в норме, как и у контрольных животных. Полученные результаты подтверждают отсутствие отрицательного действия исследуемых штаммов бактерий на динамику изменения массы тела лабораторных крыс (результаты, полученные при изучении влияния исследуемых штаммов бактерий на показатели интенсивности роста лабораторных животных, отражены в таблице 2).

Таблица 2 – Масса тела подопытных крыс при введении исследуемых штаммов молочнокислых бактерий

Группы	Живая масса, г	
	В начале опыта	В конце опыта
Контрольная	230,64 ± 9,36	238,26 ± 6,37
Опытная 1	238,18 ± 7,50	251,07 ± 11,12
Опытная 2	250,41 ± 4,09	268,58 ± 7,23
Опытная 3	210,70 ± 10,78	222,60 ± 9,48
Опытная 4	224,36 ± 8,37	231,78 ± 10,32

Как видно из данных таблицы 2, за период исследований по увеличению массы тела у животных опытных и контрольной групп существенных различий не наблюдалось. Введение изучаемых штаммов молочнокислых бактерий лабораторным животным не оказало влияния на весовые показатели некоторых внутренних органов (таблица 3).

Таблица 3 – Масса некоторых внутренних органов крыс при введении экспериментальных суспензий клеток бактерий

Группы животных	Показатели				
	Масса сердца, г	Масса легких, г	Масса печени, г	Масса почек, г	Масса селезенки, г
Контрольная	0,84 ± 0,03	1,87 ± 0,18	7,02 ± 0,60	1,71 ± 0,06	1,03 ± 0,06
Опытная 1	1,04 ± 0,10	2,16 ± 0,26	8,02 ± 0,82	2,06 ± 0,11	1,10 ± 0,08
Опытная 2	1,00 ± 0,04	2,04 ± 0,29	8,97 ± 0,30	2,03 ± 0,02	1,33 ± 0,22
Опытная 3	0,70 ± 0,06	1,84 ± 0,14	7,34 ± 0,67	1,70 ± 0,12	0,94 ± 0,07
Опытная 4	0,88 ± 0,11	1,94 ± 0,21	7,93 ± 0,76	1,82 ± 0,09	0,98 ± 0,11

Сравнительный анализ индексов внутренних органов исследуемых животных также не выявил существенных изменений (таблица 4).

Таблица 4 – Индексы внутренних органов лабораторных животных при введении экспериментальных суспензий клеток бактерий

Группы животных	Показатели				
	Индекс сердца, %	Индекс печени, %	Индекс почек, %	Индекс легких, %	Индекс селезенки, %
Контроль	3,46 ± 0,11	29,46 ± 2,47	7,16 ± 0,38	7,82 ± 0,72	4,30 ± 0,20
Опытная 1	4,16 ± 0,47	31,88 ± 2,91	8,22 ± 0,62	10,14 ± 0,86	4,30 ± 0,19
Опытная 2	3,66 ± 0,07	33,40 ± 1,19	7,56 ± 0,21	10,18 ± 1,11	4,88 ± 0,77
Опытная 3	3,26 ± 0,07	34,46 ± 1,27	7,98 ± 0,35	8,80 ± 0,99	4,96 ± 0,57
Опытная 4	3,74 ± 0,32	33,90 ± 1,33	7,86 ± 0,30	8,14 ± 0,71	4,14 ± 0,24

При этом не было отмечено патологии внутренних органов крыс, получавших культуры молочнокислых бактерий.

Таким образом, результаты эксперимента показали, что исследуемые штаммы лактобацилл *Lactobacillus ramosus* M8, *Lactobacillus fermentum* M9, *Lactobacillus plantarum* HE2, а также штамм лактококков *Lactococcus lactis* AB-32 являются непатогенными и безвредными для лабораторных животных.

При изучении токсикогенности установлено, что в период наблюдения не было выявлено гибели белых крыс, отеков и некроза тканей в месте инъекции, что свидетельствует об отсутствии токсигенности изучаемых штаммов молочнокислых бактерий.

В период наблюдения исследуемые штаммы лактобацилл *Lactobacillus ramosus* M8, *Lactobacillus fermentum* M9, *Lactobacillus plantarum* HE2, а также штамм лактококков *Lactococcus lactis* AB-32 не вызвали аллергических отеков на месте введения у животных и некроза тканей, что свидетельствует об отсутствии их аллергенности.

При введении изучаемых культур белым крысам внутрибрюшинно в дозе 0,5 мл в течение 14 дней не было выявлено гибели крыс, некроза тканей в месте инъекции и похудения животных. В связи с этим нами сделано заключение, что изучаемые штаммы молочнокислых бактерий не обладает токсичными свойствами.

Заключение. Таким образом, на основании результатов исследований считаем, что штаммы лактобацилл *Lactobacillus ramosus* M8, *Lactobacillus fermentum* M9, *Lactobacillus plantarum* HE2, а также штамм лактококков *Lactococcus lactis* AB-32, предоставленные сотрудниками Института микробиологии НАН Беларуси, является непатогенными и безвредными для лабораторных животных, не обладают токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.

При испытании эффективности пробиотического биопрепарата установлено, что наиболее выраженными антагонистическими свой-

ствами по отношению к возбудителям эндометритов обладают бактериальные консорциумы № 4, 7 и 8.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стимуляция воспроизводительной функции молочных коров эстрофаном / А. М. Чомаев [и др.] // Ветеринария. – 2007. – № 11. – С. 12-14.
2. Чохатариди, Р. П. Нужно ли нам больше коров? / Р. П. Чохатариди // Молочное и мясное скотоводство. – 1997. – № 6. – С. 19-22.
3. Серебряков, Ю. М. Роды коров в боксах как метод профилактики патологии родов и бесплодия / Ю. М. Серебряков // Ветеринария. – 2008. – № 4. – С. 35-37.

УДК: 619: 649.4.02; 639.2.06

БЕЗОПАСНЫЙ МЕТОД САНАЦИИ ПОЧВЫ ЛОЖА ПРУДА ПУТЕМ ВЫРАЩИВАНИЯ КОРМОВЫХ ТРАВ

С. Н. Назаренко

Сумской национальный аграрный университет

г. Сумы, Украина

(Украина, 40021, г. Сумы, ул. Герасима Кондратьева, 160; e-mail: sau.sumy.ua@gmail.com)

Ключевые слова: почва, ложе пруда, ботаническая площадка, *E. coli*, *S. dublin*.

Аннотация. В статье приведены данные по использовании безопасного метода санации почвы ложа пруда путем выращивания кормовых трав. Основной целью комплекса мелиоративных работ по подготовке прудов к эксплуатации является создание условий для ускорения процессов минерализации органических веществ, накопившихся за вегетационный сезон, повышение интенсивности развития естественной кормовой базы в следующем сезоне, уменьшение опасности возникновения заболеваний рыб. Исследования проводились с использованием общепринятых методик. С почвы ложа пруда были выделены бактерии группы кишечной палочки, сальмонеллы, энтерококки. Санитарно-бактериологическое состояние почвы ложа пруда при выращивании различных сельскохозяйственных культур через 140-150 дней после спуска воды показало, что до конца вегетационного периода (через 150 суток после летования) происходит постепенное снижение микробной обсемененности почвы, снижается коли-титр и титр энтерококков. Интенсивность микробной деконтаминации находится в прямой зависимости от вида выращиваемых кормовых трав. Результаты выращивания сельскохозяйственных культур через 90 сут после спуска воды показали, что на процессы самоочищения почвы ботанической площадки влияет их ризосфера – участок почвы, непосредственно прилегающий к корням растений, на которую корневыми выделениями и почвенные микроорганизмы оказывают свое действие. Через 90 сут после спуска воды наибольшую активность на процессы санации оказали тимофеева-луговая и люцерна посевная. По сравнению с исходным значением микробная