

12. Манасян, А. В. Активность ферментов пищеварительной системы у телят при диспепсии / А. В. Манасян, Г. Р. Петроян, А. М. Шахбазян // Ветеринария. – 2003. – № 7. – С. 39-40.
13. Мотавкин, П. А. Капилляры головного мозга / П. А. Мотавкин, А. В. Ломакин, В. М. Черток. – Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1983. – 140 с.
14. Теплов, С. И. Кровоснабжение и функции органов / С. И. Теплов. – Л.: Наука, 1987. – 125 с.
15. Тихомирова, А. Н. Системные и органные изменения микроциркуляторного русла при экспериментальной дегидратации организма / А. Н. Тихомирова, Е. А. Соколова // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1989. – Т. 97, № 9. – С. 54-60.
16. Чернух, А. М. Микроциркуляция / А. М. Чернух, П. Н. Александров, О. В. Алексеев. – М.: Медицина, 1984. – 432 с.
17. Gross, R. A. Mechanisms of cyclic AMP regulation in cerebral anoxia and their relationship to glycogenolysis / R. A. Gross, S. A. Ferrendelli // J. Neurochem. – 1980. – Vol. 34. – P. 1309-1318.
18. Halliwell, B. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease / B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge // Biochimistry. – 1984. – Vol. 219. – P. 1-14.
19. Kats, A.M. Lipid-membrane interactions and the pathogenesis of ischemic damage in the myocardium / A. M. Kats, F. C. Messengos // Circulat. Res. – 1981. – Vol. 48. – P. 1-16.
20. Mozsik, G. Interrelationship between the cholinergic influence, gastric mucosa Na^+ – K^+ -dependent ATP, ADP ions of gastric juice and basal secretion in patents / G. Mozsik, J. Kutas, L. Nadi // Gastric ion transport. – 1978. – P. 199-208.
21. Sato, M. Effect of sodium copper chlorophyllin on lipid peroxidative of rat liver lysosomes / M. Sato, L. Konagal, R. Kumura // Chem. Pharmacol. Bull. – 1983. – Vol. 31. – P. 3665-3670.

УДК 636.087.8 (047.31)

ПРОВЕРКА АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ИСПЫТАНИЯ ПАТОГЕННОСТИ И ТОКСИГЕННОСТИ ОТОБРАННЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ, НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

**А. Н. Михалюк¹, А. А. Сехин¹, А. В. Малец¹, И. М. Лойко¹,
Э. И. Коломиец², Т. В. Романовская²**

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 спорообразующих бактерий, безвредность, токсигенность, лабораторные животные.

Аннотация. На основании результатов исследований считаем, что штаммы спорообразующих бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* 45, *Bacillus*

amyloliquefaciens 4-2, Bacillussp. 2к, Bacillussp. 7л, Bacillussp. 8о, предоставленные сотрудниками Института микробиологии НАН Беларуси, являются непатогенными и безвредными для лабораторных животных, не обладают токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.

TESTING OF ANTAGONISTIC PROPERTIES AND TESTING OF PATHOGENICITY AND TOXIGENICITY OF SELECTED STRAINS OF BACTERIA PROMISING FOR PRODUCTION OF FODDER ADDITIVE IN LABORATORY ANIMALS

A. N. Mikhalyuk¹, A. A. Sekhin¹, A. V. Malets¹, I. M. Loyko¹,
E. I. Kolomiyets², T. V. Romanovskaya²

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 spore-forming bacteria, harmless, toxigenicity, laboratory animals.

Summary. Based on the results of the above studies, we believe that strains of spore-forming bacteria *Bacillus amyloliquefaciens 45*, *Bacillus amyloliquefaciens4-2*, *Bacillussp. 2к*, *Bacillussp. 7л*, *Bacillussp. 8о*, provided by the staff of the Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, is unpathogenic and harmless for laboratory animals, has no toxicity, allergenicity and toxigenic properties.

(Поступила в редакцию 25.05.2020 г.)

Введение. В настоящее время имеется широкий набор кормовых добавок, позволяющих повысить эффективность производства. Наибольший интерес представляют добавки, нормализующие работу пищеварительной системы и, тем самым, повышающие эффективность усвоения корма. В последние годы в животноводстве все большую популярность приобретают препараты пробиотического действия, которые благоприятно влияют на гомеостаз в кишечнике. Особенно это важно для молодняка, у которого пищеварительный тракт еще только развивается. В этой связи, особый интерес представляют пробиотики на основе спорообразующих бактерий [2, 4]. Пробиотики на основе бактерий рода *Bacillus* обладают антагонистической активностью к широкому кругу патогенных и условно-патогенных микроорганизмов: стафилококкам, протеем, кандидам, шигеллам, эшерихиям, псевдомонадам, стрептококкам. Применение споровых пробиотиков предупре-

ждает развитие дисбактериозов, способствует стимуляции клеточных и гуморальных факторов иммунитета, повышает неспецифическую резистентность организма, стимулирует регенерационные процессы в организме, нормализует обмен веществ [1, 3].

Цель работы – проверка антагонистических свойств и испытания патогенности и токсигенности отобранных штаммов бактерий, перспективных для создания кормовой добавки, на лабораторных животных.

Материал и методика исследований. Определение безопасности (безвредности) штаммов спорообразующих бактерий проводили на беспородных белых крысах с начальной массой тела 180-200 г. Для проведения опыта по принципу пар-аналогов подбирали клинически здоровых крыс, которые были распределены по 6 групп (5 опытных и 1 контрольная) по 10 особей в каждой. Опыт проводился согласно приведенной схеме. 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. Животные получали стандартный рацион вивария и воду. Кормление производили один раз в день в утренние часы, замену подстилки – три-четыре раза в неделю. За 12 ч до забоя животных лишали пищи. Контрольные животные содержались на виварном рационе, крысам опытных групп дополнительно с водой выпаивали изучаемые культуры спорообразующих бактерий 1 : 10. Скармливание крысам общего рациона и культур спорообразующих бактерий осуществляли в течение 14 сут с последующим наблюдением за лабораторными объектами.

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 + Bacillus sp. 8о
Опытная 2	10	14	ОР + Bacillus sp. 7л
Опытная 3	10	14	ОР + Bacillus sp. 2к
Опытная 4	10	14	ОР + Bacillus amyloliquefaciens 45
Опытная 5	10	14	ОР + Bacillus amyloliquefaciens 4-2

Контроль за сохранностью и падежом осуществляли ежедневно. 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.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате исследований установлено, что испытанные штаммы спорообразующих бактерий не проявляли токсического действия на организм крыс. Гибели лабораторных животных и клинически проявляющихся изменений их физиологического состояния при использовании испытуемых штаммов бактерий не выявлено.

Подопытные животные хорошо переносили исследуемые штаммы 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. У животных опытных групп не отмечали признаков неврологического дефицита (нарушение координации движения, тремора, судорожных реакций).

Вскрытие брюшной полости подопытных крыс через 14 сут показало, что выявленных изменений, свидетельствующих о токсичности культуральных жидкостей, ни в одном из исследованных органов не обнаружено. Печень, поджелудочная железа, сердце экспериментальных животных были в норме, как и у контрольных животных. Вместе с тем при патологоанатомическом исследовании внутренних органов среди животных третьей и пятой опытных групп наблюдалось значительное увеличение массы селезенки, однако нарушений в структуре органа не выявлено. Значительные увеличения массы почек наблюдались у животных второй и четвертой опытных групп.

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, была без видимых изъязвлений и кровоизлияний, серо-розового цвета.

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 – Живая масса подопытных крыс при введении экспериментальных суспензий клеток бактерий

Группы	Живая масса, г	
	В начале опыта	В конце опыта
Контрольная	173,94 ± 8,31	175,36 ± 6,70
Опытная 1	189,36 ± 9,18	192,48 ± 11,83
Опытная 2	193,10 ± 7,02	196,03 ± 9,37
Опытная 3	188,76 ± 6,42	192,77 ± 8,05
Опытная 4	192,00 ± 8,67	196,90 ± 7,93
Опытная 5	190,14 ± 7,94	195,27 ± 7,10

Как видно из данных таблицы 2, за период исследований по увеличению живой массы у животных опытных и контрольной групп существенных различий не наблюдалось. Введение штаммов изучаемых спорообразующих бактерий лабораторным животным оказало незначительное влияние на весовые показатели некоторых внутренних органов (таблица 3), сравнительный анализ индексов внутренних органов исследуемых животных также выявил несущественные изменения (таблица 4).

Так, у животных второй и четвертой опытных групп, в сравнении с аналогами контрольной группы, отмечалась некоторая тенденция к увеличению массы селезенки (в 2,4-1,8 раза соответственно), однако нарушений в структуре органа не наблюдалось. По-видимому, выявленные отличия в морфометрических показателях селезенки у животных данных групп указывают на высокую реактивность иммунной системы подопытных крыс на введение культур бактерий. По индексу селезенки животные второй и четвертой опытных групп также превосходили сверстников из контрольной группы.

Следует отметить, что у животных первой, второй, третьей и четвертой опытных групп наблюдалось незначительное повышение массы почек (в 1,2-1,3 раза), что указывает, на наш взгляд, на некоторое напряжение функционального состояния органа. По индексу почек у животных данных опытных групп также выявлена тенденция к увеличению в сравнении с аналогами контрольной группы.

При взвешивании внутренних органов установлено, что лабораторные крысы второй и пятой опытных групп отличались более низкой массой легких по сравнению с контрольными сверстниками, что, по-

видимому, обусловлено недостаточным функциональным состоянием органов.

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	0,70 ± 0,05	1,89 ± 0,20	6,12 ± 0,22	1,54 ± 0,06	0,80 ± 0,11
Опытная 1	0,92 ± 0,23	1,90 ± 0,26	7,52 ± 0,65	2,01 ± 0,21	1,11 ± 0,27
Опытная 2	0,95 ± 0,12	1,14 ± 0,14	7,73 ± 0,37	1,84 ± 0,10	1,93 ± 0,18
Опытная 3	0,73 ± 0,05	1,70 ± 0,15	7,83 ± 0,45	1,87 ± 0,07	1,00 ± 0,06
Опытная 4	0,72 ± 0,04	1,85 ± 0,21	7,44 ± 0,39	1,76 ± 0,07	1,47 ± 0,22
Опытная 5	0,70 ± 0,05	1,56 ± 0,15	5,90 ± 0,33	1,65 ± 0,11	0,92 ± 0,09

Животные данных опытных групп отличались и более низким индексом легких по сравнению с контролем.

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	3,96 ± 0,19	34,91 ± 0,53	8,77 ± 0,56	10,79 ± 1,21	4,50 ± 0,55
Опытная 1	4,48 ± 1,03	37,21 ± 1,74	10,00 ± 0,82	9,38 ± 1,08	5,44 ± 1,19
Опытная 2	5,00 ± 0,89	39,36 ± 1,24	9,36 ± 0,51	9,85 ± 0,98	5,94 ± 0,87
Опытная 3	3,69 ± 0,18	39,58 ± 1,75	9,49 ± 0,44	8,55 ± 0,49	5,07 ± 0,26
Опытная 4	3,92 ± 0,13	40,99 ± 2,60	9,63 ± 0,26	10,03 ± 0,98	8,06 ± 1,29
Опытная 5	3,91 ± 0,37	32,69 ± 0,87	9,14 ± 0,48	8,70 ± 0,80	5,11 ± 0,57

Результаты эксперимента показали, что исследуемые штаммы спорообразующих являются непатогенными и безвредными для лабораторных животных.

Для определения безвредности культуры спорообразующих бактерий вводили орально белым крысам (самки массой 180-200 г) в дозе 3 мл. Наблюдение за животными в течение 14 сут показало, что введение изучаемых штаммов спорообразующих бактерий не вызывало их гибели. Отклонений в поведении, поедаемости корма, состоянии шерстного покрова и двигательной активности, по сравнению с контрольными животными, не выявлено. Таким образом, результаты показали, что исследуемые штаммы являются непатогенными и безвредными для лабораторных животных.

Для определения токсикогенности культуру бактерий вводили крысам (5-6 голов) в области стопы задней правой лапки в дозе 0,05 мл, в качестве контроля использовали стерильную питательную среду, используемую для культивирования вышеуказанного штамма, которую вводили в области стопы задней левой лапки в дозе 0,05 мл. Наблюдение за животными проводили в течение 5 сут. Полученные

результаты показали, в период наблюдения не было выявлено гибели белых крыс, отеков и некроза тканей в месте инъекции, что свидетельствует об отсутствии токсигенности изучаемых штаммов.

Для определения аллергенности изучаемые штаммы спорообразующих бактерий вводили крысам внутрикожно в дозе 0,05 мл в течение 3 сут. В период наблюдения культуры спорообразующих бактерий не вызвали аллергических отеков на месте введения у животных и некроза тканей, что свидетельствует об отсутствии аллергенности.

Для определения токсичных свойств штаммы спорообразующих бактерий вводили белым крысам внутрибрюшинно в дозе 0,5 мл. За животными вели наблюдение в течение 14 дней. За это время не выявлено гибели белых крыс, некроза тканей в месте инъекции и похудения животных. В связи с этим нами сделано заключение, что изучаемые штаммы не обладают токсичными свойствами.

Заключение. Таким образом, на основании результатов вышеизложенных исследований считаем, что штаммы спорообразующих бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* 45, *Bacillus amyloliquefaciens* 4-2, *Bacillus* sp. 2к, *Bacillus* sp. 7л, *Bacillus* sp. 8о, предоставленные сотрудниками Института микробиологии НАН Беларуси, являются непатогенными и безвредными для лабораторных животных, не обладают токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронин, Е. С. Иммуномодуляторы и пробиотики при болезнях молодняка перспективное направление в ветеринарной медицине / Е. С. Воронин, Р. В. Петров // Иммуномодуляторы для сельскохозяйственных животных: Тез. докл. 1-й Ветер. науч. конф. – Москва. – 1990. – С. 10.
2. Нормальная микрофлора животных и ее коррекция пробиотиками / М. А. Сидоров [и др.] // Ветеринария. – 2000. – № 11. – С. 17-22.
3. Тараканов, Б. В. Использование пробиотиков в животноводстве / Б. В. Тараканов. – Калуга, 1998. – 54 с.
4. Gibson, G. R. Aspects of in vitro and In vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use / G. R. Gibson, R. Fuller // J Nutr. 2000. – № 130 (2). – P. 391-395.