

2. Мандро, Н. М. Рекомендации по применению белкового препарата из клеток костного мозга / сост. д-р ветеринар. наук, профессор Н. М. Мандро; Т. В. Федоренко. – Благовещенск: Изд-во Дальневосточного ГАУ, 2016. – 21 с. Патента RU 2553334 от 18 мая 2015 г.).

УДК 636.087.8 (047.31)

ПРОВЕРКА АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ИСПЫТАНИЯ ПАТОГЕННОСТИ И ТОКСИГЕННОСТИ ОТОБРАННЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ-АНТАГОНИСТОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

Михалюк А. Н., Малец А. В., Сехин А. А.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

Для профилактики здоровья молодняка необходимо поддерживать популяцию полезных бактерий в пищеварительном тракте. Поэтому важно при его выращивании создавать необходимые условия, обеспечивающие формирование собственного микробиоценоза, включая применение средств, в т. ч. пробиотиков, способствующих формированию микрофлоры в нужном для организма направлении [1, 2, 3].

Возможности использования пробиотиков в ветеринарии затрагивают довольно широкий круг проблем, начиная от коррекции кишечного биоценоза и распространяясь на коррекцию иммунной, гормональной и ферментативной систем молодняка. В этой связи отечественные и зарубежные ученые считают необходимым внедрение пробиотиков в систему выращивания животных для профилактики неинфекционных желудочно-кишечных заболеваний молодняка, поддержания колонизационной резистентности кишечника, повышения физиологического статуса организма новорожденных животных, стимуляции роста и развития, получения качественной продукции, безопасной в ветеринарно-санитарном отношении [1].

В связи с этим целью наших исследований явилось изучение антагонистических свойств и испытания патогенности и токсигенности отобранных штаммов бактерий-антагонистов, перспективных для создания кормовой добавки, на лабораторных животных.

Исследования проводились в виварии, научно-исследовательской лаборатории, а также кафедре микробиологии и эпизоотологии УО «Гродненский государственный аграрный университет».

В начале исследований отобранные в лаборатории биологического контроля Института микробиологии НАН Беларуси 6 штаммов ба-

цилл, перспективных для создания кормовой добавки (*Bacillus velezensis* 19, *Bacillus velezensis* 40, *Bacillus velezensis* К 9, *Bacillus subtilis* 4, *Bacillus subtilis* 14, *Bacillus subtilis* 16), подвергли исследованиям с целью изучения антагонистической активности по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам сельскохозяйственных животных.

С целью проверки антагонистических свойств изучаемых штаммов по 1 мл каждого штамма бациллярной культуры было засеяно сплошным газоном на чашки Петри с мясопептонным агаром (МПА). Для этого суспензия микроорганизмов наносилась на поверхность питательной среды и выдерживалась 30 мин. После чего ее тщательно сливали, а чашки помещали в термостат для роста культур при температуре 37°C.

Одновременно с этим проводилось выделение условно-патогенных культур микроорганизмов из молока коров, больных маститом, после начатого лечения и молока коров, подозреваемых на заболевание маститом, а также подстилки для проверки на них антагонистических свойств бацилл. Для выделения микроорганизмов из этих сред были использованы две питательные среды – МПА и Эндо.

Для молока и для подстилки перед посевом делались десятикратные разведения на физрастворе. Молоко от коров с субклинической формой мастита и от коров с клинической формой высеивали на среды Эндо и МПА из 2 и 3 разведения поверхностным методом, нанося на чашки с питательной средой по 0,05 мл соответствующего разведения и в дальнейшем растирая стерильным стеклянным шпателем. Посев подстилочного материала проводили из 4-го и 5-го разведений. Чашки с посевами выдерживали в термостате в течение 48 ч при температуре 37°C. Отдельные, отобранные нами колонии, были использованы для посева с целью размножения на сектора чашек с МПА. Одновременно с этим посевом готовились препараты-мазки для просмотра под микроскопом.

С целью определения острой и хронической токсичности штаммов бацилл был проведен опыт на беспородных белых крысах (самках) массой 186-222 г. Для проведения опыта по принципу пар-аналогов подбирали клинически здоровых крыс, которые были распределены на 7 групп (6 – опытных и 1 – контрольная) по 10 особей в каждой. Животных содержали в пластиковых клетках в условиях искусственного освещения при температуре 20-22°C 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 раза в неделю. За 12 ч до забоя животных лишали пищи.

Для определения безвредности культуры спорообразующих бактерий вводили орально белым крысам в дозе 3 мл. Наблюдение за животными проводили в течение 14 сут.

Для определения токсигенности культуры бацилл вводили крысам (4-5 голов) в области стопы задней правой лапки в дозе 0,1 мл, в качестве контроля использовали стерильную питательную среду, используемую для культивирования штаммов бацилл, которые вводили в области стопы задней левой лапки в дозе 0,1 мл.

Для определения аллергенности изучаемые штаммы бацилл вводили крысам внутрикожно в дозе 0,04 мл в течение 3 сут.

Для определения токсичных свойств штаммы бацилл вводили белым крысам внутривенно в дозе 3,0 мл. За животными вели наблюдение в течение 14 дней.

Результаты, полученные на первом этапе исследований, показали, что в условиях *in vitro* отобранные монокультуры бацилл (*Bacillus velezensis* 19, *Bacillus velezensis* 40, *Bacillus velezensis* К 9, *Bacillus subtilis* 4, *Bacillus subtilis* 14, *Bacillus subtilis* 16) проявляют высокую антагонистическую активность, подавляют рост условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

На втором этапе исследований были проведены испытания патогенности и токсигенности отобранных штаммов бактерий-антагонистов на лабораторных животных.

При введении исследуемых культур бацилл белым крысам орально в дозе 3,0 мл, внутривенно в дозе 3,0 мл, внутрикожно в дозе 0,04 мл, в область стопы правой задней лапки в дозе 0,1 мл на протяжении всего периода наблюдений патологических изменений не выявлено. Область введения препаратов безболезненна, отека и покраснения не наблюдалось.

Подопытные животные хорошо переносили культуры, были клинически здоровы в течение всего эксперимента, не отмечалось отклонений в поведении, приеме корма и воды, аналогично животным контрольной группы. Изменений состояния шерстного покрова и двигательной активности у крыс опытных групп, по сравнению со сверстниками из контрольной группы, не выявлено.

На протяжении всего опыта животные во всех группах имели хорошую упитанность и удовлетворительное общее состояние. Фекальные массы подопытных животных в период наблюдения были оформленными.

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, выстилаящая желудок и кишечник после использования исследуемых штаммов, была без видимых изъязвлений и кровоизлияний, серо-розового цвета. Печень, поджелудочная железа, почки, сердце экспериментальных животных были в норме, как и у контрольных животных.

Таким образом, результаты исследований показали, что в условиях *in vitro* отобранные монокультуры бацилл (*Bacillus velezensis* 19, *Bacillus velezensis* 40, *Bacillus velezensis* K 9, *Bacillus subtilis* 4, *Bacillus subtilis* 14, *Bacillus subtilis* 16) проявляют высокую антагонистическую активность, подавляют рост условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. На основании результатов вышеизложенных исследований считаем, что штаммы бацилл *Bacillus velezensis* 19, *Bacillus velezensis* 40, *Bacillus velezensis* K 9, *Bacillus subtilis* 4, *Bacillus subtilis* 14, *Bacillus subtilis* 16, предоставленные сотрудниками Института микробиологии НАН Беларуси, являются непатогенными и безвредными для лабораторных животных, не обладают токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакулина, Л. Ф. Пробиотики на основе спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus* и их использование в ветеринарии / Л. Ф. Бакулина, Н. Г. Перминова, И. В. Тимофеев // Биотехнология. – 2001. – № 2. – С. 48-56.
2. Осипова, И. Г. Споровые пробиотики / И. Г. Осипова, Н. А. Михайлова, И. Б. Сорокулова, Е. А. Васильева, А. А. Гайдеров // Ж. микробиол. – 2003. – № 3. – С. 113-119.
3. Темираев, Р. Б. Пробиотики и ферментные препараты в рационах цыплят / Р. Б. Темираев, Т. Т. Гаппоева // Ветеринария. – 2009. – № 4. – С.20-21.