

УДК 579.64/579.852.11

Н. В. СВЕРЧКОВА, Н. С. ЗАСЛАВСКАЯ, Т. В. РОМАНОВСКАЯ, Э. И. КОЛОМИЕЦ

НОВЫЕ ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ЖИВОТНОВОДСТВА НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS*

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, e-mail: biocontrol@mbio.bas-net.by

(Поступила в редакцию 26.09.2013)

В настоящее время в связи с биологизацией сельского хозяйства интенсивно разрабатываются технологии создания и применения биологических средств защиты животных от болезней, призванные минимизировать применение химических препаратов (антибиотиков, химиотерапевтических средств, дезинфектантов) и направленные на получение высококачественной экологически чистой сельскохозяйственной продукции.

Мировое сообщество уделяет серьезное внимание безопасности продуктов питания. Наиболее ярко это проявилось в отказе в странах Европейского союза от использования антибиотиков в качестве кормовых добавок – стимуляторов роста и развития молодняка животных. Продукты убоя животных при определенных условиях могут быть источником возникновения не только типичных инфекционных и инвазионных болезней у людей, но и различных пищевых заболеваний, к которым относят пищевые токсикоинфекции и токсикозы [1–4].

Обоснованную озабоченность вызывает широкое распространение резистентных форм патогенных микроорганизмов, устойчивых к действию современных препаратов антибиотического действия, а также накопление активных веществ лекарственных препаратов в сельскохозяйственной продукции [4].

В связи с интенсификацией животноводства и снижением эффективности антибиотикотерапии отмечается значительное увеличение заболеваемости сельскохозяйственных животных. Всеобщую эпизоотическую значимость приобрели дисбактериозы кишечника различной этиологии, гнойно-некротические заболевания у коров и свиней, легочные формы колибактериоза, микоплазменные и хламидиозные инфекции. Остается стабильно высокой заболеваемость маточного поголовья и молодняка. Падеж поголовья, затраты на лечение, снижение продуктивности и репродуктивного потенциала наносят прямой экономический ущерб животноводству [1–3].

Проблему сохранности молодняка животных в республике, особенно на свиноводческих комплексах, усугубляет высокий уровень обсемененности помещений патогенными и условно-патогенными бактериями вследствие большой концентрации поголовья и круглогодичного безвыгульного содержания животных на ограниченных площадях.

В известной мере этот вопрос решается с использованием соответствующих ветеринарных препаратов профилактического и лечебного действия, а также проведением комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий по дезинфекции воздушной среды и поверхностей животноводческих помещений.

Однако применение дезинфицирующих технологий, основанных на использовании химических препаратов, приводит к ряду нежелательных последствий, таких как кумуляция организмом остаточных количеств препаратов, их выраженное иммунодепрессивное действие, трансформация во внешней среде до канцерогенов и экотоксинов (диоксинов, тригалометанов), коррозионное действие, необходимость нейтрализации воздуха после их применения, устойчивость микрофлоры, вызванная многолетним периодом использования препаратов одного типа [5].

Вышеуказанные обстоятельства привели к необходимости разработки нового поколения высокоэффективных экологически безопасных биологических препаратов, используемых для борьбы с патогенной и условно-патогенной микрофлорой животноводческих помещений, а также направленных на коррекцию кишечного биоценоза и повышение иммунитета животных. В последнее время в качестве заместительного средства, ускоряющего процесс восстановления естественной микрофлоры желудочно-кишечного тракта после антимикробной терапии с использованием антибиотиков, у молодняка широко применяют препараты из группы пробиотиков – бактериальные препараты на основе живых микробных культур [4, 6]. Применение пробиотиков во всем мире является важнейшим элементом перехода к получению экологически чистой животноводческой продукции.

Широкое распространение в мировой ветеринарной практике получили препараты, созданные на основе спорообразующих бактерий р. *Bacillus*.

Высокая эффективность бацилл при лечении инфекционных заболеваний у животных, санации животноводческих помещений обусловлена комплексом свойств этих микроорганизмов, которые являются определяющими при выборе основы эффективного препарата. Бактерии рода *Bacillus* обладают рядом преимуществ перед другими представителями экзогенной микрофлоры: подавляющее большинство представителей рода безвредны для макроорганизма даже в высоких концентрациях, способны повышать неспецифическую резистентность организма хозяина, проявляют антагонистическую активность к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, обладают высокой ферментативной активностью, характеризуются устойчивостью к литическим ферментам, что обеспечивает их высокую жизнеспособность в желудочно-кишечном тракте, отличаются технологичностью в производстве, стабильностью при хранении, экологической безопасностью. Бактерии р. *Bacillus* способны выделять в культуральную жидкость сигнальные молекулы, иммуноактивные протеины, биологически активные пептиды, в число которых входят не только пептидные антибиотики, но и гормоноподобные вещества [6–8].

В последние годы в Беларуси в ходе реализации государственной научно-технической программы «Промышленные биотехнологии» проводятся работы по замещению импортируемых пробиотических препаратов, средств для санации животноводческих помещений препаратами отечественного производства. Активную работу по их созданию проводит лаборатория средств биологического контроля Института микробиологии НАН Беларуси.

В результате многолетних исследований научно обоснована и внедрена в производство технология получения и применения отечественного препарата Энатин на основе спорообразующих бактерий *Bacillus pumilus*, предназначенного для профилактической дезинфекции животноводческих помещений. Использование препарата на свиноводческом комплексе в 10%-ной рабочей концентрации позволяет снизить обсемененность воздуха бактериями групп кишечной палочки на 100 %, стафилококко-стрептококковой – на 84 %, общей микрофлорой – на 78 % через 2 сут после обработки. Через 7 сут после обработки биологическая эффективность Энатина составляет 87, 68 и 58 % соответственно. При этом бактерии группы кишечной палочки практически отсутствуют и на 14-е сутки после обработки.

Обсемененность поверхностей животноводческого помещения (станка, пола, стен) бактериями групп кишечной палочки, стафилококко-стрептококковой и общей микрофлорой через 2 сут после обработки снижается на 100, 87 и 61 %, через 7 сут – на 85, 72 и 42 % соответственно. Эффективность действия препарата через 14 сут после обработки в отношении бактерий групп кишечной палочки, стафилококко-стрептококковой в среднем составляет 61 и 28 % соответственно.

Проведенные производственные испытания эффективности действия биодезинфектанта Энатин показали, что биологические препараты являются эффективным профилактическим средством, направленным на снижение распространения инфекций у животных при их массовом содержании, в первую очередь вызванных бактериями групп кишечной палочки и стафилококко-стрептококковой.

Разработанный нами препарат Энатин не имеет аналогов в Республике Беларусь, а по своим показателям – спектру антимикробного действия, технологичности и биологической эффективности – не уступает известным зарубежным аналогам [9].

На основе спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-454 Д разработана энергосберегающая, безотходная, конкурентоспособная в рыночных условиях технология получения пробиотического препарата Бацинил в клеточной и бесклеточной формах, предназначенного для коррекции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта и стимуляции иммунной системы при заболеваниях крупного рогатого скота, свиней и птицы. Использование Бацинила обеспечивает повышение резистентности организма за счет увеличения бактерицидной активности сыворотки крови и фагоцитарной активности лейкоцитов и, как следствие, снижение заболеваемости животных, способствует увеличению выпуска и повышению качества животноводческой продукции, улучшает экологические характеристики производства и условия труда персонала.

В соответствии с производственными испытаниями профилактическая эффективность препарата составляет 93,3 %, лечебная – 96,0 %, длительность течения желудочно-кишечных и респираторных заболеваний животных сокращается в 1,9–2,4 раза, среднесуточный прирост живой массы достигает 15–20 % [10].

Максимальная биологическая эффективность отмечается при комплексном использовании биологических препаратов. Так, в производственных условиях показана высокая эффективность действия от комбинированного применения Энатины в аэрозольной форме, используемого для санации мест пребывания животных, и пробиотического препарата Бацинил, используемого орально. Показано, что комплексное использование указанных препаратов позволяет снизить количество больных животных (5,7 % в опыте против 27,0 % в контроле) и ускорить процесс их выздоровления.

Для профилактики и лечения гнойно-некротических поражений кожных покровов животных на основе спорообразующих бактерий *B. subtilis* БИМ В-497-Д разработан пробиотический препарат Ветоспорин в жидкой и гелевой формах. Жидкий Ветоспорин, полученный путем глубинного культивирования спорообразующих бактерий, применяют наружно методом орошения или путем нанесения на стерильную салфетку с последующей иммобилизацией на пораженные ткани. Для профилактики и терапии заболеваний копыт препарат также помещают в ванну и осуществляют прогон животных 1 раз в день в теплое время года. Ветоспорин в гелевой форме получают путем смешивания жидкого препарата на основе бактерий *B. subtilis* БИМ В-497-Д с формообразующими компонентами [11].

Препарат обладает широким спектром действия против патогенных и условно-патогенных микроорганизмов – бактерий рр. *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Proteus*, *Klebsiella*, способствует ускоренному заживлению ран при гнойно-некротических поражениях, восстанавливает функции дистальной части конечности животного, в среднем на 8 дней раньше по сравнению с контролем.

Разработанные препараты – Энатин, Бацинил, Ветоспорин – не являются патогенными, токсичными и токсигенными при пероральном и ингаляционном воздействии, не обладают кожно-раздражающими свойствами, эмбриотоксичностью и тератогенностью, не оказывают влияния на качество животноводческой продукции.

Правильное применение пробиотических препаратов, средств для санации в животноводстве дает высокий экономический эффект. Так, использование Энатины в животноводческих комплексах обеспечивает повышение сохранности молодняка на 10–20 % (в сравнении с химическим дезинфектантом). Общий экономический эффект от применения препарата в год на свиноводческом комплексе мощностью 24,0 тыс. голов составляет 60,7 тыс. долларов.

Использование Бацинила позволяет получить прибыль от применения на одном животном (теленке) до 7 долларов.

В настоящее время за рубежом и уже в нашей стране появляются предприятия, которые ограничивают или полностью отказались от антибиотикотерапии и применяют пробиотики с кормом, выпойкой и в виде аэрозольной обработки (интраназального ввода, санации помещений, подстилки). Получаемая продукция не содержит остаточных количеств антибиотиков, сульфаниламидных и хлорсодержащих препаратов. Она экологически безопасна, пользуется повышенным спросом у населения.

Значительную часть инфекционной патологии животных составляют заболевания вирусной и вирусно-бактериальной этиологии. Вирусные инфекции, как правило, осложняются бактери-

альными и наоборот. Поэтому представляется весьма актуальной проблема разработки средств, характеризующихся одновременно антибактериальными и противовирусными свойствами. Для ее решения пробиотики используют в сочетании с различными иммуностимуляторами, противовирусными веществами и цитокинами, среди которых наиболее широко представлены препараты интерферона. Однако этот подход усложняет технологию производства и повышает цену, что часто делает такие комплексные препараты нерентабельными, поэтому в реальной практике они имеют ограниченное применение.

Альтернативой такому подходу является одно из перспективных направлений в разработке новых биопрепаратов – модификация пробиотических штаммов путем клонирования генов противовирусных белков. К достоинствам препаратов на основе рекомбинантных штаммов относится простота в применении и изготовлении, так как при этом не требуется дорогостоящая очистка лекарственной субстанции (интерферона). В случае доставки биологически активных веществ генетически модифицированными микроорганизмами снижается также вероятность быстрой потери активности цитокининов за счет расщепления их пищеварительными ферментами и укорачивается путь к органам-мишеням [13–15].

Наиболее привлекательным вектором для доставки биологически активных белков являются бактерии рода *Bacillus*, не обладающие адгезивными свойствами, что обеспечивает их транзитное прохождение через желудочно-кишечный тракт теплокровных в течение контролируемого периода времени с последующей элиминацией.

В настоящее время в Институте микробиологии НАН Беларуси совместно с Белгосуниверситетом проводятся исследования по созданию рекомбинантного штамма пробиотических бактерий с геном куриного α -интерферона – основы нового препарата комплексного иммуномодулирующего, антибактериального и противовирусного действия.

Развитие отечественного животноводства в значительной степени определяется также состоянием кормовой базы и особенно качеством кормов. Экономические исследования и практический опыт показывают, что именно этот показатель определяет успех производства животноводческой продукции. Рацион кормов должен быть сбалансированным и обеспечивать эффективный рост и развитие животного за возможно короткий промежуток времени. Повышенная концентрация питательных веществ в рационе зачастую приводит к дисбалансу желудочно-кишечного тракта. Температурная обработка или гранулирование также изменяют микробиологический баланс кормов. Кроме того, корма растительного происхождения используются животными не полностью, что приводит к снижению эффективности кормления, увеличению расхода корма и, как следствие, возрастанию расходов на доставку и раздачу. Так, клетчатка и некоторые другие полисахариды практически не перевариваются в желудочно-кишечном тракте свиней.

Важнейшей задачей кормопроизводства является создание и применение в практике таких кормовых смесей, которые бы максимально усваивались организмом животного для обеспечения его жизненных функций и обладали профилактическими свойствами.

Возможность увеличения продуктивности животных и птицы на основе более полного усвоения питательных веществ кормов, стимуляции роста и развития животных и птицы, повышения неспецифического иммунитета может быть реализована путем использования новых биологически активных препаратов: ферментных, пробиотических, пребиотических, комбинированных ферментно-пробиотических, а также комплексных пробиотических, обогащенных фитокомпонентами [12].

Разработки Института микробиологии НАН Беларуси направлены на создание нового пробиотического препарата для кормопроизводства с высокой антагонистической и ферментативной (протеолитической, целлюлолитической, ксиланазной) активностями, позволяющего улучшить качество и усвояемость кормов, снизить их обсемененность патогенной и условно-патогенной микрофлорой.

В опытах показано, что применение нового биологического препарата в рационах комбикормов порослят-отъемышей способствует активизации белкового, углеводного, минерального обменов, улучшенному усвоению питательных веществ корма, снижению затрат корма на 1 кг прироста живой массы, повышению продуктивности животных на 8,5 %.

Таким образом, в Институте микробиологии НАН Беларуси на основе спорообразующих бактерий рода *Bacillus* разработан ряд пробиотических препаратов: для коррекции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта и стимуляции иммунной системы при заболеваниях крупного рогатого скота, свиней и птицы; профилактики и лечения гнойно-некротических поражений кожных покровов животных; санации помещений животноводческих комплексов; повышения биологической доступности кормов; разработана схема комплексного применения препаратов Энатин и Бацинил. Всего за период 2010–2012 гг. по указным разработкам произведено и реализовано свыше 9,5 т экологически безопасных биопрепаратов, использование которых обеспечило получение высококачественной животноводческой продукции, свободной от антибиотиков и химиотерапевтических средств.

Литература

1. Илиеш В. Д., Горячева М. М. Продукция животноводства без антибиотиков. 2012. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://subtilis.ru>. – Дата доступа: 10.11.2012.
2. Бондаренко В. М., Воробьев А. А. // Микробиол. журн. 2004. № 1. С. 84–92.
3. Шахов А. Г. // Ветеринарная патология. 2003. № 2. С. 23–28.
4. Панин А. Н., Малик Н. И. // Ветеринария. 2006. № 7. С. 18–20.
5. Юдин С. М., Слободян В. Г. Эффективность применения новых дезинфекционных технологий в промышленном животноводстве // АгроПрессУрал. 2006. № 2. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.uralagro.ru/article51.php>. – Дата доступа: 15.04. 2006.
6. Walker R., Buckley M. // A report from the American Academy of Microbiology. 2006. 22 p. [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www. antibiotic.ru>. – Date of access: 05.02.2013.
7. Похиленко В. Д., Перелыгин В. В. // Химическая и биологическая безопасность. 2007. № 2–3. С. 20–41.
8. Hall-Stoodley L., William J., Stoodley C. // Nature Reviews Microbiology. 2004. № 2. P. 95–108.
9. Sverchkova N. V., Romanovskaya T. V., Zdor N. A., Kolomiets E. I. // Polish Journal of Natural Science. 2012. Vol. 27, № 1. P. 15–30.
10. Sverchkova N. V., Kolosovskaya M. S., Romanovskaya T. V. et al. // Biochemistry and Biotechnology: Research and Development. N. Y.: Nova science publishes, 2012. P. 105–112.
11. Коломиец Э. И., Романовская Т. В., Сверчкова Н. В. и др. // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: Сб. науч. тр. Т. 2. Мн., 2009. С. 231–243.
12. Ушакова Н. А., Некрасов Р. В., Правдин В. Г. // Фундаментальные исследования. 2012. № 1. С. 184–192.
13. Белявская В. А. // Журн. микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии. 2003. № 2. С. 102–109.
14. Малик Н. И., Гулейчик И. А. // Биотехнология: состояние и перспективы развития: материалы 2-го Междунар. конгресса. М., 2003. С. 254.
15. Ferreira L. C. S., Ferreira R. C. C., Schuman W. // An. Acad. Bras. Ciens. 2005. Vol. 77, № 1. P. 34–38.

N. V. SVERCHKOVA, N. S. ZASLAVSKAYA, T. V. ROMANOVSKAYA, E. I. KOLOMIETS

NEW PROBIOTIC PREPARATIONS FOR STOCK BREEDING BASED ON BACTERIA OF GENUS *BACILLUS*

Summary

A series of national import-substituting probiotics based on sporulating bacteria of genus *Bacillus* was developed: for correction of microbial cenosis of gastrointestinal tract and stimulation of immune system in sick cattle, swine and poultry; for prevention and treatment of purulent-necrotic skin lesions; for sanitary treatment of stock and poultry farms; for increasing biological digestibility of fodder. A comprehensive scheme of Enatin and Bacinil application was elaborated. Introduction of up-to-date local microbial technologies results in manufacturing of top-quality stock farm products free of antibiotics and chemical drugs.