

УДК 579

**ВЛИЯНИЕ АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ
Lactobacillus paracasei В-11821 НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ
БИОПРЕПАРАТА, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО
ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СВИНОВОДСТВЕ**

Н.В. Позолотина, И.В. Дармов, И.В. Маракулин, А.П. Позолотин
Вятский государственный университет, г. Киров, 610000, Россия

Аннотация

В работе показано преимущество использования популяции штамма *Lactobacillus paracasei* В-11821 с высоким уровнем адгезии над популяцией со сниженным уровнем адгезии в составе ветеринарного пробиотического препарата. Научно-хозяйственный опыт проводили на поросятах-отъемышах в возрасте (25 ± 4) дней, разделенных на три группы. Первая группа получала биопрепарат на основе популяции *L. paracasei* В-11821 с высоким уровнем адгезии, вторая – со сниженным уровнем адгезии, третья была контрольной и не получала препарат. Микробиологический анализ кишечной микрофлоры показал, что к концу пробиотикотерапии концентрации лакто- и бифидобактерий в опытных группах находились в пределах нормы, в контрольной группе – остаются более чем на два порядка ниже нормы. Концентрация лактозопозитивной кишечной палочки к концу опыта в 1-й группе соответствует показателю нормы, во 2-й и контрольной – остается более чем на три порядка ниже нормы. Концентрация непатогенных стафилококков в 1-й группе остается в пределах нормы, во 2-й и контрольной группах на порядок ее превышает. В опытных группах представители условно патогенной микрофлоры не обнаруживаются, в отличие от контрольной группы. В первой и второй опытных группах наблюдается повышение среднесуточных привесов (на 12.2% и 7.0%), живой массы (12.4% и 7.1%) и сохранности поголовья (13.3% и 6.7% соответственно) по сравнению с контрольной группой. Сравнение показателей первой и второй опытных групп выявило, что в 1-й группе повышаются среднесуточные привесы (на 5.5%), живая масса (на 5.3%) и сохранность поголовья (на 6.7%), в отличие от 2-й группы. Экономический эффект от применения препарата на основе высокоадгезивной популяции бактерий *L. paracasei* В-11821 в расчете на 1 руб. затрат составляет 11.51 руб.; на основе низкоадгезивной популяции – 5.66 руб.

Ключевые слова: адгезия, лактобактерии, поросята-отъемыши, кишечная микрофлора, среднесуточные привесы

Введение

Возрастающие потребности человечества в экологически чистой и безопасной мясной продукции требуют интенсивного развития животноводства. В этой связи является использование пробиотических препаратов, к которым в настоящее время предъявляются повышенные требования не только как к средствам профилактики инфекционных кишечных заболеваний, но и как к стимуляторам роста [1, 2]. Пробиотики – это биопрепараты на основе живых микроорганизмов,

которые при естественном способе введения оказывают благоприятные эффекты на физиологические функции, биохимические и поведенческие реакции организма хозяина через нормализацию его микробиологического статуса [3].

Для повышения эффективности пробиотических препаратов используется ряд научных подходов: использование в составе пробиотиков нескольких пробиотических штаммов; добавление пребиотических компонентов, стимулирующих рост полезной микрофлоры и способствующих повышению выживаемости биокомпонента; использование штаммов-продуцентов ценных незаменимых аминокислот и многое другое [1, 2]. Важным аспектом, влияющим на эффективность биопрепаратов, является также уровень адгезивной активности входящих в их состав микроорганизмов. Высокий уровень адгезии пробиотических бактерий обеспечивает их прикрепление к поверхности эпителиоцитов, способствует колонизации слизистой желудочно-кишечного тракта и стимуляции роста нормофлоры. Это, в свою очередь, препятствует адгезии и размножению условно-патогенной микрофлоры и ее токсическим воздействиям на организм животного [3, 4].

Уже более ста лет в качестве пробиотических микроорганизмов широко используются лактобактерии, которые являются абсолютно безвредными для организма и обладают выраженными пробиотическими свойствами. Кроме того, лактобактерии способны повышать количество и стимулировать активацию иммунокомпетентных клеток в лимфатических тканях, связанных с кишечником. В результате данной активации повышается продукция специфических антител, иммуноглобулина А, лизосомальных ферментов и цитокинов, обеспечивающих иммунный ответ. Более эффективны в плане стимуляции фагоцитарной активности иммунокомпетентных клеток бактерии, способные к адгезии на эпителиальных клетках кишечника [5, 6].

Адгезия бактерий к эпителиоцитам – это сложный многофакторный процесс, который может включать в себя неспецифические физико-химические взаимодействия или взаимодействия между комплементарными молекулами на клеточных поверхностях. Комплементарные взаимодействия, в отличие от физико-химических, образуют более прочные связи и обеспечивают необратимое связывание клеток с эпителиоцитами [7]. Эти взаимодействия обеспечиваются посредством адгезинов, которые у лактобактерий могут быть представлены тейхоевыми и липотейхоевыми кислотами клеточной стенки [4], экзополисахаридами, обладающими сродством к рецепторам энтероцитов [8], либо целым комплексом поверхностных белков клетки [9, 10].

Белковые факторы адгезии лактобацилл кодируются различными хромосомными и плазмидными генами, что позволяет клеткам адаптироваться к взаимодействиям с поверхностными молекулами колоноцитов [7]. В то же время в процессе постоянных переселений производственных пробиотических штаммов на искусственных питательных средах в отсутствие селективных факторов естественного отбора и в связи с видовой и популяционной гетерогенностью микроорганизмов внутри одного штамма возможны изменения биологических свойств клеток, в частности снижение адгезивной активности [11–15], что может негативно отразиться на эффективности биопрепарата.

В дополнение к вышесказанному надо отметить, что всегда остаются актуальными вопросы об экономической эффективности применения того или иного биопрепарата в животноводстве, о существенности влияния на экономический эффект изменений пробиотических свойств штаммов, таких как снижение адгезивной активности.

Целью настоящей работы является установление взаимосвязи между уровнем адгезивной активности и ростостимулирующим эффектом популяции пробиотического штамма *L. paracasei* В-11821 в рамках научно-хозяйственного опыта на поросятах-отъемышах.

1. Материалы и методы

В работе использовали следующие штаммы: *L. paracasei* В-11821, который был выделен из содержимого толстого кишечника поросят-отъемышей и депонирован в ВКПМ ГосНИИГенетики [16, 17]; *L. amylovorus* БТ-24/88 («Лактоамиловорин»); *L. plantarum* 8Р-А3 («Лактобактерин»), *L. acidophilus* LA-5 («Нормобакт»).

Оценку адгезивных свойств лактобактерий осуществляли с помощью фотоколориметрического экспресс-метода [18]. Для этого готовили суспензию лактобацилл в физиологическом растворе хлорида натрия с оптической плотностью, равной 1.0, (рН 7.2–7.3) и суспензию эритроцитов свиньи с концентрацией 10^{12} кл/дм³ с трехкратной отмывкой в физиологическом растворе хлорида натрия. В пробирки вносили по 1 см³ суспензии эритроцитов и по 2.5 см³ суспензии исследуемых культур лактобактерий. Контролем служили пробы, содержащие 2.5 см³ суспензии микробных клеток и 1 см³ физиологического раствора хлорида натрия (контрольная проба № 1); 1 см³ суспензии эритроцитов и 2.5 см³ физиологического раствора хлорида натрия (контрольная проба № 2). Опытные и контрольные пробы инкубировали в шейкер-инкубаторе при температуре (37 ± 1) °С в течение 30 мин, затем центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин. Далее отбирали надосадочную жидкость в объеме 2 см³ и измеряли ее оптическую плотность.

Адгезивные свойства лактобактерий в отношении эритроцитов оценивали по следующей формуле:

$$ПА = \frac{D_{к1} + D_{к2} - D_{оп}}{D_{к1}} \cdot 100\%,$$

где ПА – показатель адгезии, $D_{к1}$, $D_{к2}$ и $D_{оп}$ – оптическая плотность надосадочной жидкости в 1-й, 2-й контрольных пробах и опытной пробе соответственно.

Адгезивные свойства лактобактерий в отношении эритроцитов оценивались исходя из следующих критериев: при ПА свыше 40% – высокий уровень адгезивной активности, при ПА от 15% до 40% – средний, при ПА от 5% до 15% – низкий, при ПА менее 5% степень адгезии бактерий считали нулевой.

На основе популяции *L. paracasei* В-11821 с высоким уровнем адгезии $((50.7 \pm 3.4)\%)$ был приготовлен лабораторный образец пробиотического препарата, который представляет собой нативную культуру *L. paracasei* В-11821 в концентрации $(4.1 \pm 0.5) \cdot 10^9$ КОЕ/см³ с добавлением в качестве стабилизирующей добавки сахарозы в концентрации 10% [19]. Путем 15 последовательных

пересевов в жидкой питательной среде была получена популяция *L. paracasei* B-11821 со сниженным в два раза уровнем адгезии ($(25.1 \pm 10.0)\%$), на основе которой аналогичным образом был подготовлен второй лабораторный образец пробиотического препарата.

Научно-хозяйственный опыт проводили на 90 поросятах-отъемышах в возрасте (25 ± 4) дней. Из них были сформированы три группы: первая опытная группа получала биопрепарат основе популяции *L. paracasei* B-11821 с высоким уровнем адгезии, вторая – со сниженным уровнем адгезии, третья группа была контрольной и не получала пробиотический препарат. Биопрепарат выпаивали один раз в день в течение 10 сут, затем был перерыв на 10 сут, после этого цикл повторяли. Дозировка препарата составила $(2.0 \pm 0.3) \cdot 10^9$ КОЕ/кг массы животного.

Исследования видового и количественного состава кишечной микрофлоры проводили согласно рекомендациям, представленным в работах [21–23]. Для этого производили забор фекалий из прямой кишки поросят. Количество бактерий группы кишечной палочки определяли с помощью высева проб кишечного содержимого на дифференциально-диагностическую питательную среду Эндо (Микроген); лактобактерий – на плотную питательную среду MRS (Himedia); бифидобактерий – на жидкую обогащенную питательную среду для контроля стерильности (ФГУП ГНЦПМ г. Оболенск) с налидиксовой кислотой в концентрации 30 мкг/см^3 , стафилококков – на желточно-солевой агар (ФГУП ГНЦПМ г. Оболенск), гемолитических форм бактерий – на 5%-ный кровяной агар (в основе ГМФ-агар (НИЦФ, г. Санкт-Петербург)), энтерококков – на среду Калины (ФГУП ГНЦПМ г. Оболенск), цитратредуцирующих энтеробактерий – на среду Симмонса (ФГУП ГНЦПМ г. Оболенск). Полученные данные сравнивали с показателями нормы, которые представлены в работе [3]. Ежедневно оценивали прирост веса поросят путем взвешивания [24].

Статистический анализ полученных результатов проводили, руководствуясь рекомендациями [25]. Результаты исследований представлены в виде средних арифметических значений с доверительным интервалом при уровне вероятности $P = 0.95$.

2. Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследований оценили адгезивные свойства лактобацилл, выделенных из различных источников до и после 15 последовательных пересевов на жидкой питательной среде MRS. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Табл. 1

Уровень адгезии лактобацилл до и после 15 пересевов в жидкой питательной среде MRS ($\bar{x} \pm I_{95}, n = 5$)

Штамм	Показатель адгезии пересевов, %	
	до	после
<i>L. paracasei</i> B-11821	50.8 ± 3.4	25.1 ± 10.0
<i>L. amylovorus</i> БТ-24/88 («Лактоамиловорин»)	42.4 ± 4.6	13.1 ± 3.7
<i>L. plantarum</i> 8P-A3 («Лактобактерин»)	56.4 ± 7.5	17.6 ± 8.3
<i>L. acidophilus</i> LA-5 («Нормобакт»)	13.0 ± 5.1	5.8 ± 1.8

Из таблицы видно, что адгезивная активность исследованных популяций лактобактерий значительно снижается: *L. paracasei* В-11821, *L. acidophilus* LA-5 – почти в два раза, *L. amylovorus* БТ-24/88 и *L. plantarum* 8Р-А3 – более чем в три раза. Снижение адгезивной активности популяций лактобацилл может быть связано с тем, что при хранении и пересевах на искусственных питательных средах в условиях отсутствия селективных факторов естественного отбора биологические свойства микроорганизмов могут значительно варьировать. В частности, может изменяться (чаще всего в сторону понижения) уровень адгезивной активности. Такие эффекты описаны для многих патогенных и условно-патогенных для человека и животных микроорганизмов [11–13]. Возможно, это связано с видовой и популяционной гетерогенностью микроорганизмов, которая способствует их адаптации к условиям окружающей среды [13].

Для дальнейших исследований подготовили два лабораторных образца пробиотического препарата: первый – на основе высокоадгезивной популяции *L. paracasei* В-11821 (с уровнем адгезии $(50.8 \pm 3.4)\%$), второй – на основе популяции *L. paracasei* В-11821 со сниженным уровнем адгезии $((25.1 \pm 10.0)\%)$.

При исследовании влияния уровня адгезивной активности популяции *L. paracasei* В-11821 на эффективность пробиотического препарата на ее основе оценивали динамику нормализации кишечной микрофлоры (табл. 2), показатели прироста и сохранности поголовья поросят-отъемышей (табл. 3).

Анализируя динамику изменения микробиологического состава содержимого толстого кишечника поросят-отъемышей на протяжении курса приема биопрепарата, можно сделать ряд выводов. Концентрация представителей резидентной микрофлоры, таких как лакто- и бифидобактерии, которые обеспечивают естественную резистентность организма, в опытных группах к концу эксперимента нормализовалась, в контрольной группе – осталась более чем на два порядка ниже нормы. Концентрация кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью в кишечном содержимом после первого цикла приема биопрепарата значительно снижалась во всех группах поросят. Это может быть связано с переходом поросят-отъемышей на новый рацион питания: с молока на более грубые корма, содержащие большое количество клетчатки и крахмала. К концу опыта концентрация лактозопозитивной кишечной палочки в первой группе значительно повысилась (почти на 3 порядка) и практически достигла показателя нормы, а во 2-й и контрольной – осталась почти на 3 порядка ниже нормы. Концентрация энтерококков во всех группах на протяжении всего опыта находилась в пределах нормы во всех группах. Концентрация непатогенных стафилококков в 1-й группе находилась в пределах нормы, во 2-й и контрольной группах на порядок ее превышала. В 1-й и 2-й опытных группах представители условно патогенной микрофлоры, такие как лактозонегативные энтеробактерии, патогенные стафилококки, цитратредуцирующие энтеробактерии, после двух циклов приема пробиотического препарата не высевались, в отличие от контрольной группы, где концентрация этих микроорганизмов намного превышала показатели нормы.

Из данных табл. 3 следует, что в 1-й и 2-й опытных группах наблюдается достоверное ($P = 0.95$) увеличение среднесуточных привесов (на 12.2% и 7.0% соответственно), живой массы (12.4% и 7.1% соответственно) и сохранности поголовья (13.3% и 6.7% соответственно) по сравнению с животными контрольной

Табл. 2

Влияние приема пробиотика на основе популяции *L. paracasei* B-11821 с высоким (1-я группа) и сниженным (2-я группа) уровнем адгезии на видовой и количественный состав кишечной микрофлоры поросят-отъемышей ($\bar{x} \pm I_{95}$, $n = 5$)

Группа исследуемых микроорганизмов	Содержание микроорганизмов lg(КОЕ/г)		
	1-я группа	2-я группа	Контрольная группа
Лактобактерии:			
– до приема	9.7 ± 0.1	9.1 ± 0.1	7.1 ± 0.1
– после 1-го цикла приема	9.6 ± 0.2	9.3 ± 0.1	8.5 ± 0.1
– после 2-го цикла приема	10.2 ± 0.1	9.5 ± 0.3	8.7 ± 0.2
– норма	9.9 ± 0.4		
Бифидобактерии:			
– до приема	7.5 ± 0.3	8.5 ± 0.3	8.5 ± 0.3
– после 1-го цикла приема	8.6 ± 0.5	8.5 ± 0.2	8.6 ± 0.5
– после 2-го цикла приема	8.5 ± 0.6	8.2 ± 0.5	7.6 ± 0.5
– норма	9.0 ± 0.5		
Лактозопозитивная кишечная палочка:			
– до приема	9.7 ± 0.1	8.5 ± 0.1	7.7 ± 0.2
– после 1-го цикла приема	5.8 ± 0.2	6.3 ± 0.2	5.6 ± 0.3
– после 2-го цикла приема	8.5 ± 0.1	6.2 ± 0.1	5.5 ± 0.2
– норма	8.1 ± 0.1		
Энтерококки:			
– до приема	8.8 ± 0.1	8.4 ± 0.1	5.7 ± 0.2
– после 1-го цикла приема	6.0 ± 0.1	5.7 ± 0.3	4.9 ± 0.3
– после 2-го цикла приема	7.4 ± 0.1	6.9 ± 0.1	7.2 ± 0.4
– норма	7.9 ± 1.0		
Лецитиназоотрицательные (непатогенные) стафилококки:			
– до приема	–	–	5.7 ± 0.3
– после 1-го цикла приема	5.0 ± 0.1	6.3 ± 0.1	6.7 ± 0.1
– после 2-го цикла приема	3.8 ± 0.2	5.9 ± 0.3	5.7 ± 0.2
– норма	3.5 ± 1.1		
Патогенные стафилококки:			
– до приема	4.2 ± 0.1	5.0 ± 0.2	5.4 ± 0.2
– после 1-го цикла приема	–	4.1 ± 0.2	5.7 ± 0.2
– после 2-го цикла приема	–	–	3.7 ± 0.2
– норма	Отсутствие		
Лактозонегативные энтеробактерии:			
– до приема	7.3 ± 0.2	5.7 ± 0.2	6.2 ± 0.1
– после 1-го цикла приема	5.3 ± 0.5	4.4 ± 0.1	6.3 ± 0.1
– после 2-го цикла приема	–	–	6.6 ± 0.1
– норма	Отсутствие		
Цитратредуцирующие бактерии:			
– до приема	6.6 ± 0.1	5.9 ± 0.2	–
– после 1-го цикла приема	–	–	–
– после 2-го цикла приема	–	–	6.4 ± 0.6
– норма	Отсутствие		

Знак «–» обозначает, что микроорганизмы не высевались в исследуемых разведениях.

Жирным шрифтом выделены значения, достоверно отличающиеся от показателей нормы при уровне вероятности $P = 0.95$.

Табл. 3

Влияние пробиотика на основе популяции *L. paracasei* В-11821 с высоким (1-я группа) и сниженным (2-я группа) уровнем адгезии на динамику изменения живой массы, среднесуточных привесов и сохранность поголовья поросят-отъемышей ($\bar{x} \pm I_{95}, n = 30$)

Показатель, ед. изм.	Группа		
	1-я	2-я	контрольная
Живая масса в начале опыта, кг	7.2 ± 0.2	7.0 ± 0.3	7.2 ± 0.2
Живая масса на 60-е сутки опыта			
– кг	(40.3 ± 1.1) *	(37.5 ± 0.3) *	35.1 ± 1.2
– процент к контролю	114.8*	106.8*	100
Среднесуточный привес с 1-х по 60-е сутки опыта			
– г	(546 ± 18) *	(508 ± 11) *	465 ± 13
–процент к контролю	117.4*	109.2*	100
Живая масса в конце выращивания			
– кг	(115.5 ± 2.1) *	(110.2 ± 1.4) *	102.9 ± 3.5
– процент к контролю	112.4*	107.1*	100
Среднесуточный привес			
– г	(641.6 ± 12) *	(612.2 ± 8) *	571.7 ± 19
–процент к контролю	112.2*	107.0*	100*
Сохранность поросят, процент	100	93.3	86.7

*Значение достоверно отличается от показателей опытной и контрольной группы.

Табл. 4

Экономическая эффективность применения гомопробиотического препарата на основе популяции *L. paracasei* В-11821 с высоким (1-я группа) и сниженным (2-я группа) уровнем адгезии

Показатель	Ед. изм.	Группы		
		1-я	2-я	контрольная
Принято на выращивание	гол.	30	30	30
Живая масса 25-дневных поросят	кг	7.2	7.2	7.2
Валовая живая масса	кг	216.0	216.0	216.0
Средняя живая масса 1 животного на конец выращивания	кг	115.5	110.2	102.9
Валовая живая масса	кг	3465.0	3085.6	2653.0
Валовый прирост живой массы	кг	3249.0	2869.6	2437.0
Себестоимость 1 кг прироста живой массы	руб.	110.90	110.90	110.90
Валовая стоимость привесов	руб.	360314.1	318238.6	270256.5
Стоимость препарата на 1 животного	руб.	240.0	240.0	–
Стоимость препарата на всю группу	руб.	7200	7200	–

группы. При сравнении показателей 1-й и 2-й опытных групп между собой в 1-й группе наблюдается достоверное повышение среднесуточных привесов (на 5.5%), живой массы (на 5.3%) и сохранности поголовья (на 6.7%), по сравнению с животными 2-й опытной группы.

Для оценки целесообразности использования в составе биопрепарата высокоадгезивной популяции *L. paracasei* В-11821 произвели расчет экономического эффекта применения пробиотика (табл. 4).

Дополнительная прибыль от применения гомопробиотического препарата на основе высокоадгезивной популяции *L. paracasei* В-11821 составила $360314.1 - 270256.5 = 90057.6$ руб., а чистая прибыль – $90057.6 - 7200.0 = 82857.6$ руб. Дополнительная прибыль от применения гомопробиотического препарата на основе низкоадгезивной популяции *L. paracasei* В-11821 составила $318238.6 - 270256.5 = 47982.1$ руб., чистая прибыль составила $47982.1 - 7200.0 = 40782.1$ руб. Экономический эффект от применения препарата на основе высокоадгезивной популяции в расчете на 1 руб. затрат составил $82857.6 : 7200.0 = 11.51$ руб.; на основе низкоадгезивной популяции – $40782.1 : 7200.0 = 5.66$ руб.

Заключение

В научно-хозяйственном опыте выявлено, что выпаивание биопрепарата на основе штамма *L. paracasei* В-11821 оказывает положительное влияние на микрофлору и показатели продуктивности поросят. Микробиологические исследования кишечного содержимого поросят-отъемышей, проведенные до начала курса выпаивания биопрепаратов, показали значительное содержание патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Были обнаружены лактозонегативные кишечные палочки, стафилококки с лецитиназной активностью, гемолитические формы бактерий, цитратредуцирующие бактерии. При исследовании кишечного содержимого поросят-отъемышей, не получавших биопрепарат, на протяжении всего эксперимента наблюдали общую тенденцию замещения облигатной микрофлоры аллохтонными патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Содержание лактобактерий, лактозопозитивной кишечной палочки было ниже нормы. После применения пробиотика на основе штамма *L. paracasei* В-11821 в кишечном содержимом поросят наблюдали нормализацию видового и количественного состава кишечной микрофлоры, в частности лактозопозитивной кишечной палочки, бифидо- и лактобактерий, непатогенных стафилококков. После второго цикла приема биопрепаратов лактозонегативные кишечные палочки, гемолитические формы бактерий, стафилококки с лецитиназной активностью, цитратредуцирующие микроорганизмы в кишечном содержимом поросят не обнаруживались.

Состояние микробиоценоза кишечника поросят-отъемышей влияет на рост и дальнейшее развитие макроорганизма, его устойчивость к инфекционно-токсическим воздействиям, а следовательно, и на прирост и сохранность поголовья. В 1-й и 2-й опытных группах поросят, получающих биопрепарат, наблюдается повышение среднесуточных привесов (на 12.2% и 7.0% соответственно), живой массы (12.4% и 7.1% соответственно) и сохранности поголовья (13.3% и 6.7% соответственно) по сравнению с животными, не получающими пробиотик.

Кроме того, проведенное исследование позволяет сделать вывод, что уровень адгезии популяции *L. paracasei* В-11821 оказывает существенное влияние на эффективность пробиотического препарата, в частности, получены достоверные различия показателей продуктивности 1-й и 2-й опытных групп поросят-отъемышей: в 1-й группе, получающей биопрепарат на основе высокоадгезивной популяции *L. paracasei* В-11821, наблюдается повышение среднесуточных привесов (на 5.5%), живой массы (на 5.3%) и сохранности поголовья (на 6.7%), по сравнению со 2-й группой, получавшей биопрепарат на основе низкоадгезивной

популяции. Во 2-й группе содержание непатогенных стафилококков и лактозопозитивной кишечной палочки отличаются от показателей нормы на два порядка. Экономический эффект от применения препарата на основе высокоадгезивной популяции *L. paracasei* В-11821 в расчете на 1 руб. затрат составил 11.51 руб.; на основе низкоадгезивной – 5.66 руб.

Таким образом, пробиотические препараты в животноводстве являются неотъемлемой частью рациона молодняка, так как они обеспечивают профилактику кишечных инфекций и получение экологически чистой и безопасной мясной продукции. Высокоадгезивные бактерии в составе биопрепарата, по сравнению с бактериями с низким уровнем адгезии, эффективнее закрепляются на поверхности колоноцитов, уменьшая вероятность прикрепления условно патогенных микроорганизмов, стимулируя рост кишечной нормофлоры, улучшая пищеварение и перистальтику кишечника. Высокоадгезивные бактерии по сравнению с низкоадгезивными эффективнее осуществляют стимуляцию фагоцитарной активности иммунокомпетентных клеток, обеспечивающих иммунный ответ. Все эти факторы оказывают положительное влияние на рост и развитие всего организма в целом, на его устойчивость к инфекционным агентам и обеспечивают ростостимулирующий эффект.

Литература

1. Самуйленко А.Я., Павленко И.В., Еремец В.И., Соловьев Л.Б., Бобровская И.В., Гаврилов В.А. Симбиотические препараты в животноводстве // Ветеринария и кормление. – 2014. – № 6. – С. 23–24.
2. Самуйленко А.Я., Албулов А.И., Павленко И.В., Фролова М.А., Школьников Е.Э., Бережной И.И., Гаврилов В.А. Хитозан – компонент защитной среды высушивания // Вестн. Рос. акад. с.-х. наук. – 2014. – № 6 – С. 49–51.
3. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. 1. – М.: ГРАНТЬ, 1998. – 288 с.
4. Иванова Е.И., Попкова С.М., Шабанова Н.М. Адгезивные свойства микроорганизмов, колонизирующих различные биотопы организма человека // Биология. Экология. – 2011. – Т. 4, № 4. – С. 25–29.
5. Блудова Н.Г. Лактобактерии, пробиотики и иммунная система кишечника // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 4. – С. 115–120.
6. Малик Н.И. Новые пробиотические препараты ветеринарного назначения: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2003. – 40 с.
7. Сэндл Т. Механизмы бактериальной адгезии // Чистые помещения и технологические среды. – 2014. – № 1. – С. 54–58.
8. ОФС.1.7.2.0012.15 Производственные пробиотические штаммы и штаммы для контроля пробиотиков. – М., 2015. – 49 с.
9. Živković M. EPS-SJ exopolisaccharide produced by the strain *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8 is involved in adhesion to epithelial intestinal cells and decrease on *E. coli* association to Caco-2 cells // Front. Microbiol. – 2016. – V. 7. – P. 1–14. – doi: 10.3389/fmicb.2016.00286.
10. Coconnier M.H., Klaenhammer T.R., Kernéis S., Bernet M.F., Servin A.L. Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 on human enterocyte and mucus-secreting cell lines in culture // Appl. Environ. Microbiol. – 1992. – V. 58, No 6. – P. 2034–2039.

11. Лисовская С.А. Новый подход к оценке патогенного потенциала клинических штаммов *Candida albicans*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Казань, 2008. – 25 с.
12. Кузнецова М.В., Карпунина Т.И., Щербакова Ю.К., Сторчеус Л.Н., Афанасьевская Е.В. Изучение биологических свойств клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* при многократных пересевах и хранении // Журнал МедиАль. – 2013. – № 2. – С. 12–15.
13. Магданова Л.А., Голясная Н.В. Гетерогенность как адаптивное свойство бактериальной популяции // Микробиология. – 2013. – Т. 82, № 1. – С. 3–13. – doi: 10.7868/S0026365613010072.
14. Chang Y.H., Kim J.K., Kim H.J., Kim W.Y., Kim Y.B., Park Y.H. Selection of a potential probiotic *Lactobacillus* strain and subsequent *in vivo* studies // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2001. – V. 80, No 2. – P. 193–199. – doi: 10.1023/A:1012213728917.
15. Wang A., Yu H., Gao X., Li X., Qiao Sh. Influence of *Lactobacillus fermentum* I5007 on the intestinal and systemic immune responses of healthy and *E. coli* challenged piglets // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2009. – V. 96, No 1. – P. 89–98. – doi: 10.1007/s10482-009-9339-2.
16. Дармов И.В., Маракулин И.В., Погорельский И.П., Позолотина Н.В. Выделение и сравнительная характеристика штаммов лактобацилл – представителей нормальной кишечной микрофлоры поросят // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2015. – № 2. – С. 3–10.
17. Пат. № 2608871 РФ. Штамм бактерий *Lactobacillus paracasei* 1, используемый для приготовления пробиотического препарата / Н.В. Позолотина, И.В. Дармов, И.В. Маракулин, А.Ю. Орлова. – № 2015147972; заявл. 6.11.2015; опубл. 25.01.17, Бюл. № 3. – 11 с.
18. Пат. № 2360969 РФ. Способ определения бактериофиксирующей активности эритроцитов / В.Е. Романов, А.Г. Ивонин, А.Л. Бондаренко. – № 2007141246/13; заявл. 06.11.2007; опубл. 20.05.2009, Бюл. № 11. – 11 с.
19. Позолотина Н.В., Дармов И.В., Маракулин И.В., Погорельский И.П. Технология приготовления жидкой формы ветеринарного пробиотического препарата на основе штамма *Lactobacillus paracasei* // Фундам. исслед. – 2015. – № 2, ч. 10. – С. 2164–2169.
20. Позолотина Н.В., Дармов И.В., Маракулин И.В., Погорельский И.П., Севрюгин В.А., Демакова О.Н., Жаворонкова А.В. Оценка влияния биопрепарата на основе гомопробиотического штамма лактобацилл на кишечную микрофлору и продуктивность поросят-отъемышей в условиях промышленного свиноводства // Ветеринарный врач. – 2015. – № 5. – С. 29–36.
21. Иванов П.В., Бойцов А.Г., Коваленко А.Д., Ластовка О.Н., Нилова Е.А. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника: информ. письмо. – СПб.: Центр Госсанэпиднадзора. 2002. – 31 с.
22. Равилов А.З., Гильмутдинов Р.Я., Хусаинов М.Ш. Микробиологические среды. – Казань: ФЭН, 1999. – 398 с.
23. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 1978. – 394 с.
24. Щеглов В., Надальяк Е., Махаев В., Груздев В., Клейменов Н., Рядчиков В., Антонов А. Методические указания по унификации исследований в области кормления сельскохозяйственных животных с использованием детализированных норм. – М., 1987. – 36 с.
25. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л.: Медгиз, 1962. – 180 с.

Поступила в редакцию
30.06.17

Позолотина Надежда Владимировна, преподаватель кафедры микробиологии

Вятский государственный университет
ул. Московская, д. 36, г. Киров, 610000, Россия
E-mail: shnadic@yandex.ru

Дармов Илья Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии

Вятский государственный университет
ул. Московская, д. 36, г. Киров, 610000, Россия
E-mail: gitikx@mail.ru

Маракулин Игорь Вадимович, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии

Вятский государственный университет
ул. Московская, д. 36, г. Киров, 610000, Россия
E-mail: biologiavgu@yandex.ru

Позолотин Александр Павлович, кандидат технических наук, доцент кафедры инженерной физики

Вятский государственный университет
ул. Московская, д. 36, г. Киров, 610000, Россия
E-mail: firewcross@mail.ru

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2018, vol. 160, no. 1, pp. 54–66

Influence of the Level of Adhesive Activity of *Lactobacillus paracasei* B-11821 Bacteria on the Effectiveness of the Probiotic Preparation for Use in Pig Breeding

N.V. Pozolotina^{*}, *I.V. Darmov*^{**}, *I.V. Marakulin*^{***}, *A.P. Pozolotin*^{****}

Vyatka State University, Kirov, 610000 Russia

E-mail: ^{*}shnadic@yandex.ru, ^{**}gitikx@mail.ru,
^{***}biologiavgu@yandex.ru, ^{****}firewcross@mail.ru

Received June 30, 2017

Abstract

The purpose of this paper is to reveal the relationship between the level of adhesive activity and the growth-stimulating effect of the probiotic strain *L. paracasei* B-11821 in the research and production experiment on wean piglets. For the above purpose, we have studied the influence of the probiotic preparation on the basis of both the highly adhesive strain *L. paracasei* B-11821 and the same strain with reduced level of adhesion on the intestinal microflora of weaned piglets, as well as on their daily weight increment and livestock safety.

Weaned piglets aged (25 ± 5) days have been divided into three groups, with 30 piglets in each group. The first group has been given the probiotic preparation based on *L. paracasei* B-11821 with high level of adhesion ((50.7 ± 3.4)%), the second group has been given the preparation with reduced level of adhesion ((25.1 ± 10.0)%), the third group has been taken for control, i.e., piglets have not received the probiotic preparation.

The results of the microbiological analysis of the intestinal microflora show that by the end of probiotic therapy the concentration of lacto- and bifidobacteria normalizes in the experimental groups, while in the control group it remains more than two points below the norm. The concentration of lactose-positive *E. coli* in the intestinal contents of weaned piglets at the end of the experiment corresponds to the norm in the first group and remains more than 3 points below the norm in the second and control

groups. The concentration of non-pathogenic staphylococci in the first group remains within the norm and in the second and control groups is one point higher. In the experimental groups, no representatives of conditionally pathogenic microflora have been detected in contrast to the control group. If the strain with high level of adhesion is used, an increase is observed in the average daily weight increment (by 5.5%), live weight (by 5.3%), and livestock safety (by 6.7%) as compared to piglets which have been given the biopreparation on the basis of the strain with reduced level of adhesion. The economic effect per 1 ruble of cost is 11.51 and 5.66 rubles from using the preparation on the basis of highly adhesive culture and low-adhesive culture, respectively.

Keywords: adhesion, lactobacilli, weaned piglets, intestinal microflora, average daily weight increment

References

1. Samuilenko A.Ya., Pavlenko I.V., Eremets V.I., Solov'ev L.B., Bobrovskaya I.V., Gavrilov V.A. Symbiotic preparations in cattle breeding. *Vet. Med. Korml.*, 2014, vol. 6, pp. 23–24. (In Russian)
2. Samuilenko A.Ya., Albulov A.I., Pavlenko I.V., Frolova M.A., Shkol'nikov E.E., Berezhnoi I.I., Gavrilov V.A. Chitosan as a component of the protective environment of drying. *Vestn. Ross. Akad. S.-kh. Nauk*, 2014, no. 6, pp. 49–51. (In Russian)
3. Shenderov B.A. *Meditinskaya mikrobnaya ekologiya i funktsional'noe pitanie* [Medical Microbial Ecology and Functional Foods]. Vol. 1. Moscow, Grant², 1998. 288 p. (In Russian)
4. Ivanova E.I., Popkova S.M., Shabanova N.M. Adhesive properties of microorganisms colonizing various biotopes of the human body. *Biol. Ekol.*, 2011, vol. 4, no. 4, pp. 25–29. (In Russian)
5. Bludova N.G. Lactobacilli, probiotics, and immune system of the intestine. *Suchasna Gastroenterol.*, 2005, no. 4, pp. 115–120. (In Russian)
6. Malik N.I. New probiotic preparations for veterinary use. *Extended Abstract of Doct. Biol. Sci. Diss.* Moscow, 2003. 40 p. (In Russian)
7. Sandle T. Mechanisms of bacterial adhesion. *Chist. Pomeshch. Tekhnol. Sredy*, 2014, no. 1, pp. 54–58. (In Russian)
8. Master seed probiotic strains and strains for control of probiotics. General Pharmacopoeia Article no. 1.7.2.0012.15. Moscow, 2015. 49 p. (In Russian)
9. Živković M. EPS-SJ exopolysaccharide produced by the strain *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8 is involved in adhesion to epithelial intestinal cells and decrease on *E. coli* association to Caco-2 cells. *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7. doi: 10.3389/fmicb.2016.00286.
10. Coconnier M.H., Klaenhammer T.R., Kernéis S., Bernet M.F., Servin A.L. Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 on human enterocyte and mucus-secreting cell lines in culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, vol. 58, no. 6, pp. 2034–2039.
11. Lisovskaya S.A. A new approach to assess the pathogenic potential of clinical strains of *Candida albicans*. *Extended Abstract of Cand. Biol. Sci.* Kazan, 2008. 25 p. (In Russian)
12. Kuznetsova M.V., Karpunina T.I., Shcherbakova Yu.K., Storcheus L.N., Afanas'evskaya E.V. Study of the biological properties of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* under repeated subculture and storage. *Zh. Medial'*, 2013, no. 2, pp. 12–15. (In Russian)
13. Magdanova L.A., Golyasnaya N.V. Heterogeneity as an adaptive trait of microbial populations. *Microbiology*, 2013, vol. 82, no. 1, pp. 1–10. doi: 10.1134/S0026261713010074.
14. Chang Y.H., Kim J.K., Kim H.J., Kim W.Y., Kim Y.B., Park Y.H. Selection of a potential probiotic *Lactobacillus* strain and subsequent *in vivo* studies. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2001, vol. 80, no. 2, pp. 193–199. doi: 10.1023/A:1012213728917.
15. Wang A., Yu H., Gao X., Li X., Qiao Sh. Influence of *Lactobacillus fermentum* I5007 on the intestinal and systemic immune responses of healthy and *E. coli* challenged piglets. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2009, vol. 96, no. 1, pp. 89–98. doi: 10.1007/s10482-009-9339-2.
16. Darmov I. V., Marakulin I.V., Pogorelskiy I.P., Pozolotina N.V. Isolation and comparative characteristics of strains of *Lactobacillus* strains – representatives of the normal intestinal microflora of pigs. *Actual. Vopr. Vet. Biol.*, 2015, no. 2, pp. 3–10. (In Russian)
17. Pozolotina N.V., Darmov I. V., Marakulin I.V., Orlova A.Yu. The bacterial strain *Lactobacillus paracasei* 1 used to make a probiotic preparation. Patent RF no. 2608871, 2017. (In Russian)

18. Romanov V.E., Ivonin A.G., Bondarenko A.L. Method for determining the bacteriophage activity of erythrocytes. Patent RF no. 2360969, 2006. (In Russian)
19. Pozolotina N.V., Darmov I.V., Marakulin I.V., Pogorelskii I.P. Technology of preparing the liquid form of the veterinary probiotic based on the strain *Lactobacillus paracasei*. *Fundam. Issled.*, 2015, no. 2, pt. 10, pp. 2164–2169. (In Russian)
20. Pozolotina N.V., Darmov I.V., Marakulin I.V., Pogorelskii I.P., Sevryugin V.A., Demakova O.N., Zhavoronkova A.V. Evaluation of the effect of a biological product on the basis of a homobiprobic strain of lactobacilli on the intestinal microflora and productivity of wean pigs under the conditions of industrial pig production. *Vet. Vrach*, 2015, vol. 5, pp. 29–36. (In Russian)
21. Ivanov P.V., Boitsov A.G., Kovalenko A.D., Lastovka O.N., Nilova E.A. *Sovershenstvovanie metodov diagnostiki disbakterioza tolstogo kishhechnika: inf. pis'mo* [Perfection of Diagnostic Methods for Colon Dysbiosis: Informational Letter]. St. Petersburg, Tsentr Gossanepidnadzora, 2002. 31 p. (In Russian)
22. Ravilov A.Z., Gilmutdinov R.Ya., Husainov M.Sh. *Mikrobiologicheskie sredy* [Microbiological Media]. Kazan, FEN, 1999. 398 p. (In Russian)
23. Labinskaya A.S. *Mikrobiologiya s tekhnikoj mikrobiologicheskikh issledovaniy* [Microbiology and Technical Means for Carrying Out Microbiological Studies]. Moscow, Meditsina, 1978, 394 p. (In Russian)
24. Shcheglov V., Nadal'yak E., Makhaev V., Gruzdev V., Kleimenov N., Ryadchikov V., Antonov A. *Metodicheskie ukazaniya po unifikatsii issledovaniy v oblasti kormleniya sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh s ispol'zovaniem detalizirovannykh norm* [Methodical Instructions for Unification of Research in the Field of Feeding Farm Animals using Detailed Standards]. Moscow, 1987. 36 p. (In Russian)
25. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. *Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh* [Statistical Methods in Microbiological Research]. Leningrad, Medgiz, 1962. 180 p. (In Russian)

Для цитирования: Позолотина Н.В., Дармов И.В., Маракулин И.В., Позолотин А.П. Влияние адгезивной активности бактерий *Lactobacillus paracasei* B-11821 на эффективность биопрепарата, предназначенного для использования в свиноводстве // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2018. – Т. 160, кн. 1. – С. 54–66.

For citation: Pozolotina N.V., Darmov I.V., Marakulin I.V., Pozolotin A.P. Influence of the level of adhesive activity of *Lactobacillus paracasei* B-11821 bacteria on the effectiveness of the probiotic preparation for use in pig breeding. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2018, vol. 160, no. 1, pp. 54–66. (In Russian)