

## РЕФЕРАТ

Отчет 23 с., 9 рис., 7 табл., 6 источн.

МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ, ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ,  
МЕТОДИКА, ТЕТРАБИОТИК, ЛИЗИРУЮЩИЙ РАСТВОР,  
ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

Объектами исследования являлись образцы пробиотического препарата «Тетрабиотик» производства ООО «Фермент».

Цель работы – разработка методики для определения концентрации *Enterococcus faecium* в комплексном пробио-тическом препарате и оценка содержания *Enterococcus faecium* в 10-ти образцах пробиотического препарата.

В ходе выполнения исследования разработана методика для определения концентрации *Enterococcus faecium* в комплексном пробиотическом препарате и оценено содержание *Enterococcus faecium* в 10-ти образцах пробиотического препарата «Тетрабиотик».

## ВВЕДЕНИЕ

Предполагается, что к 2050 году численность населения мире достигнет 9 млрд. Постоянный рост населения неразрывно связано с ростом спроса на продукты растительного и животного происхождения. По этой причине ученые ищут решения, позволяющие интенсифицировать производство продуктов питания с одновременным сокращением себестоимости продукции, с соблюдением высоких стандартов качества и безопасности (как для людей, так и для окружающей среды). Виды используемых кормовых добавок влияют на здоровье животных и увеличение производства высококачественных мяса, яиц, молока и рыбы. Животноводство неотделимо от питания и здоровья потребителя, так и животных. Кишечные патогены, такие как кампилобактеры, сальмонеллы, *Listeria* и *Yersinia* являются прямым источником загрязнения пищевых продуктов и причиной зоонозов. Поэтому новые методы животноводства, направленные на повышение качества и безопасности мяса, принимая во внимание благополучие животных и бережное отношение к окружающей среде [1].

Хотя производство безопасных пищевых продуктов для человека является основной целью разведения животных, окружающая среда и благополучие самих животных также должны быть приняты во внимание. С микробиологической точки зрения производство здоровой пищи животного происхождения предполагает изучение патогенов пищевого происхождения, с одной стороны, а с другой стороны, методы используются для борьбы с этими микробами. Обычный метод контроля или предотвращения бактериальных инфекций в сельском хозяйстве заключается в применении антибиотиков. Однако запрет этих соединений в качестве стимуляторов роста вызвал множество изменений в животноводстве. И с тех пор их использование ограничивается лечением и профилактикой бактериальных инфекций. В этой функции их значение больше не нужно демонстрировать, но, к сожалению, их чрезмерное и нерациональное использование привело к двойной проблеме: появлению устойчивости к антибиотикам и наличию остатков антибиотиков в пищевых продуктах.

Среди стратегий замены антибиотиков использование кормовых добавок, благоприятно влияющих на продуктивность животных и их благополучие, особенно за счет модуляции кишечной микробиоты, вызвали множество исследований. Использование пробиотиков представляется подходящей альтернативой для решения этих проблем из-за их способности модулировать иммунную систему и кишечную микробиоту, а также их антагонистические свойства в отношении некоторых патогенных бактерий и их способность играть роль фактора роста (иногда связанного с пребиотиками) при использовании в качестве кормовых добавок [2, 3]. Сбалансированная кишечная микробиота представляет собой эффективный барьер против колонизации патогенами, продуцирует полезные метаболитические субстраты и стимулирует иммунную систему невоспалительным образом [4].

Пробиотики/пребиотики обладают способностью модулировать баланс и активность желудочно-кишечной (ЖКТ) микробиоты и, таким образом, они считаются полезными для животного-хозяина и используются в качестве функциональных пищевых продуктов. Многочисленные факторы, такие как питание и управленческие ограничения, как было показано, заметно влияют на структуру и деятельность кишечных микробных сообществ в организмах домашнего скота. В предыдущих исследованиях сообщалось о потенциале пробиотиков и пребиотиков в питании животных; однако их эффективность часто различаются и противоречивы, возможно, отчасти из-за того, что динамика сообщества GI не учитывалась. В условиях стресса микробы прямого кормления могут быть использованы для снижения риска или тяжести диареи, вызванной нарушением нормальной кишечной среды. Наблюдаемые преимущества пребиотиков также могут быть минимальными у здоровых тел, у которых микробное сообщество относительно стабильно [5].

Тем не менее, пробиотические препараты показали многообещающие результаты в различных областях животноводства. За 30 лет реализация пробиотиков прямого откорма значительно увеличилась во всех секторах животноводства, основной причиной чего стало стремление заменить низкодозированные антибиотики в сельском хозяйстве на пробиотические препараты для улучшения общего состояния здоровья животных с повышением эффективности кормления, наращивания живой массы и продуктивности [4, 6].

Термин «пробиотик» происходит от двух греческих слов («pro» и «bios») и означает «на всю жизнь». Первая концепция пробиотиков, вероятно, были предложены в 1907 году Мечниковым, который отметил, что бактерии могут оказывать благотворное влияние на естественную микробиоту кишечника. Понятие «пробиотик», вероятно, был введен Фердинандом Верджинио, который в своей статье 1954 года под названием «Анти- и пробиотики» сравнили вредное действие антибиотиков и других антимикробных средств на кишечную микробиоту с благотворным действием («пробиотиком») отдельных бактерий. Со временем, определение пробиотика было в значительной степени изменено

Текущее определение, сформулированное в 2002 году ФАО и Эксперты рабочей группы ВОЗ утверждают, что пробиотики это «живые штаммы строго отобранных микроорганизмов, которые, при введении в адекватных количествах повышают здоровье и приносят выгоду хозяину» [1].

Пробиотики должны соответствовать определенным требованиям. Задерживаясь в пищеварительном тракте пробиотические организмы должны иметь возможность выжить в сложных условиях и благотворно влиять на стабильность и защита кишечной экосистемы. Иммуномодулирующие свойства пробиотиков, связанные со здоровьем и болезнями животных, особенно важны и основаны на врожденном или адаптивном иммунитете. Эпителиальные клетки слизистой оболочки ЖКТ создают избирательно проницаемый барьер между средой просвета и внутренними тканями тела. Этот барьер является первой линией защиты хозяина от вредоносных микробов в желудоч-



но-кишечном тракте (врожденный иммунитет кишечника), но такие факторы, как стресс или болезненные состояния, могут нарушить этот барьер. Определенные пробиотические микроорганизмы могут усиливать функцию кишечного барьера за счет модуляции фосфорилирования белков цитоскелета и плотных контактов и тем самым влияя на межклеточные взаимодействия слизистой оболочки кишечника, а также на клеточную «стабильность».

Отбор новых пробиотических организмов включает штаммы и даже генны микроорганизмов, демонстрирующие наиболее благоприятные или наиболее специфичные эффекты. Оценка фокусируется главным образом на безопасности и соотношении пользы и риска, связанных с использованием данного пробиотического штамма. Пробиотические культуры, добавляемые в корм, должны быть устойчивыми к температурам и давлениям, используемым в процессе гранулирования, а также к влажности и воздействию неблагоприятных веществ при обработке и хранении кормов, таких как тяжелые металлов или микотоксинов. Период высокой активности пробиотиков в кормах и премиксах не должно быть меньше 4 месяцев.

Согласно предложениям ВОЗ, ФАО и Европейского управления по безопасности пищевых продуктов (EFSA) в их процессе отбора пробиотических штаммов должен соответствовать как критериям безопасности и функциональности, так и технологической полезности [1].

Этим требованиям соответствует довольно широкий спектр микроорганизмов. В частности, пробиотики для жвачных животных включают микроорганизмы прямого вскармливания, такие как дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) и виды бактерий, включая *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* и молочнокислые бактерии (LAB).

Лактобациллы, педиококки и энтерококки представляют собой пробиотики молочнокислых бактерий, наиболее часто применяемые на откормочных площадках крупного рогатого скота и оказывают положительное влияние на различные процессы пищеварения, особенно на целлюлозолитическую деградацию растительного сырья и синтез микробных белков [4].

В состав пробиотического препарата входят штаммы *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* и *Enterococcus faecium*.

*Bacillus* – грамположительные бактерии, факультативные аэробные или микроаэробные, гетеротрофные, сапрофитные бактерии. Некоторые бактерии этого рода, такие как *Bacillus subtilis* регулярно используются в качестве пищевой добавки в животноводстве, особенно в рыбоводстве и у домашней птицы. Ряд исследователей сходятся во мнении, что эти виды обладают высоким потенциалом иммуномодуляции и защиты против болезней в животноводстве и рекомендуют *B. subtilis* как полезный агент для биологической борьбы с болезнями. Другие виды рода *Bacillus*, такие как *Bacillus licheniformis* также продемонстрировали пробиотические способности при использовании в качестве кормовой добавки для свиней и доказали свою эффективность против диареи, возникающей у поросят через 3-10 дней после отлучения от груди, вызванное энтеротоксичными штаммами *E. coli*. Бактерии рода

*Bacillus* в качестве пробиотиков имеют реальный потенциал и могут быть использованы в безопасном производстве и в качестве альтернативы традиционным антибиотикам.

*Enterococcus* – распространенный представитель эндогенной кишечной микробиоты человека и животных. Хотя этот род не считается «общепризнанные безопасными», виды из рода *Enterococcus* используются в качестве пробиотиков для человека или животных. Штаммы энтерококков используют в качестве кормовых добавок для птиц и свиней и альтернативы использованию сублетальных антибиотиков и кормов. Несколько исследований, направленных на оценку пробиотических способности видов рода *Enterococcus* были проведены, и большинство этих исследований были посвящены *Enterococcus faecium*. Штамм *E. faecium* также продемонстрировал свою способность стимулировать другие молочнокислые бактерии (особенно *Lactobacillus*) в тонком кишечнике индейки, улучшать FCR у кур, улучшать морфологию кишечника и благотворно влиять на микробиоту слепой кишки у бройлеров [2].

При производстве пробиотических препаратов особенно важно разработать методы оценки качества продукции, в частности методы определения титра входящих в его состав микроорганизмов. Разработка такого метода и стала основной целью НИР ХД 23-014.