

ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА «БИОБАКТ «МИКРОКЛИМАТ» НА МИКРОФЛОРУ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ПОМЕЩЕНИЙ

¹Лукьянова Е.А., ²Сысоева А.Н., ^{1,2}Ивасенко Д.А., ¹Ивасенко Д.А., ^{1,2}Франк Ю.А.

¹ООО «Дарвин», г. Томск, Российская Федерация

²Томский государственный университет, г. Томск, Российская Федерация

Аннотация. Выполнены эксперименты для оценки влияния биопрепарата «Биобакт «Микроклимат» на основе *Bacillus subtilis* D18 на микрофлору животноводческих помещений. Проведены экспериментальные обработки секторов для опороса на одном из животноводческих предприятий в Томской области. Мониторинг численности микроорганизмов санитарно-показательных групп выявил снижение общего микробного числа, численности бактерий группы кишечной палочки, энтеробактерий и представителей рода *Staphylococcus* в опытных помещениях свинопункта по сравнению с контрольными условиями.

Ключевые слова. *Bacillus subtilis*, животноводческие помещения, антагонизм, общее микробное число, условно-патогенная микрофлора.

EFFECT OF THE "BIOBAKT "MICROCLIMATE" BIOLOGICAL PREPARATION ON MICROFLORA OF INDOOR LIVESTOCK FARM SECTIONS

¹Lukjanova E.A., ²Sysoeva A.N., ^{1,2}Ivasenko D.A., ¹Ivasenko D.A., ^{1,2}Frank Y.A.

¹Darwin, Tomsk, Russian Federation

²Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

Abstract. Experiments were performed to evaluate the effect of the biological preparation "BioBakt" Microclimate" based on *Bacillus subtilis* D18 on the microflora of indoor livestock farm sections. Experimental treatment of farrowing sections was carried out at one of the livestock farms in Tomsk region, West Siberia. Monitoring of the sanitary-indicative microorganisms counts revealed a decrease in the total aerobic microbial counts, number of *E. coli* group bacteria, enteric bacteria and *Staphylococcus* spp. in the experimental sections of the livestock farm compared to control conditions.

Keywords. *Bacillus subtilis*, indoor livestock farm, antagonism, total aerobic microbial count, opportunistic microflora.

Представители рода *Bacillus* продуцируют антимикробные пептиды, которые активны против ряда патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и рассматриваются как потенциальная альтернатива антибиотикам [1], [2]. Препараты на основе *Bacillus* spp. широко используются в животноводстве, однако лишь единичные исследования посвящены эффективности использования пробиотических бактерий для формирования благоприятного микроклимата в животноводческих помещениях. Подобный способ применения биопрепарата – «моющего пробиотика», содержащего *B. licheniformis*, был описан Савиной и Сеитовым (2013) [3].

Согласно многочисленным исследованиям, обобщенным в обзоре Суми с соавторами [4], *Bacillus subtilis* образует наиболее разнообразный ряд антимикробных веществ и проявляет антагонистическую активность по отношению ко многим нежелательным микроорганизмам. Цель настоящего исследования заключалась в оценке влияния биопрепарата «Биобакт «Микроклимат», основанного на *B. subtilis*, на микрофлору животноводческих помещений. В задачи работы входило проведение экспериментальных обработок секторов для опороса и еженедельный мониторинг численности микроорганизмов санитарно-показательных групп на поверхностях помещений и животных.

Действующим началом биопрепарата «Биобакт «Микроклимат» являются спорообразующие бактерии *Bacillus subtilis*, известные своей антагонистической активностью по отношению к условно-патогенным микроорганизмам, подтвержденной и в исследованиях последних лет [4]. Количество жизнеспособных клеток и спор высокоактивного штамма *B. subtilis* D18 в составе биопрепарата на момент применения составляло не менее 10⁸ КОЕ/мл.

Экспериментальные работы по применению биопрепарата «Биобакт «Микроклимат» проводились на одном из свиноводческих хозяйств в Томской области - СВК «Куяновский» ООО «АГРО».

В опыте участвовало 3 сектора для опороса (2 опытных и 1 контрольный). Каждый сектор представляет собой помещение 160 м², в котором находится 30 боксов, оборудованных станком для свиноматки и лампой для обогрева новорожденных поросят. Один из выбранных секторов являлся контрольным, в нем проводили только стандартную санитарную обработку с использованием препарата «Вироцид», принятую на СВК «Куюновский». В двух других секторах производилась экспериментальная обработка биопрепаратом «БиоБакт «Микроклимат» с помощью установки «холодный туман». Секторы были обозначены следующим образом:

К – контрольный сектор с обработками дезинфицирующим средством «Вироцид» в дозировках, рекомендуемых производителем, 1 раз в неделю;

O1 – сектор с обработками биопрепаратом «БиоБакт «Микроклимат» исходя из нормы расхода 10 л на 100 м²;

O2 – сектор с обработками биопрепаратом «БиоБакт «Микроклимат» исходя из нормы расхода 1 л на 100 м².

Секторы обрабатывались биопрепаратом по следующей схеме: (1) после заселения животных обработка производилась ежедневно в течение пяти суток, затем каждые третьи сутки до начала опороса, (2) во время опороса обработка биопрепаратом производилась ежедневно 10 суток и затем (3) каждые третьи сутки до выселения животных.

Смывы брались с площади 25 см², для ограничения поверхности использовался стерильный трафарет из металлической проволоки. Взятие смывов производилось с помощью стерильных увлажненных ватных тампонов. Стерильные ватные тампоны на деревянных палочках заготавливались заранее и стерилизовались в сухожаровом шкафу при температуре 160 °С 2,5 часа. Дополнительно готовились пробирки с 10 мл стерильного физиологического раствора. Непосредственно перед взятием смыва тампон увлажнялся в пробирке и после помещался обратно для транспортировки в лабораторию. С каждого сектора еженедельно производился отбор пяти смывов в различных точках помещения и с животных, после в лаборатории полученные смывы объединялись в одну пробу для каждого сектора. Численность микроорганизмов определяли методом предельных разведений на жидких индикаторных питательных средах. Для учета бактерий группы кишечной палочки (БГКП), энтерококков и стафилококков использовали среды Кесслера, SDS бульон и ГРМ №8, соответственно. Общее микробное число (ОМЧ) определяли на среде МПБ. Посевы культивировали при температуре 37 °С в течение 2-3 суток. Для интерпретации результатов и вычисления наиболее вероятного числа микроорганизмов применяли таблицу Мак-Креди.

В пробах, отобранных непосредственно после предварительной дезинфицирующей обработки помещений в опытном секторе O1, были обнаружены бактерии группы кишечной палочки и стафилококки (по 9,5*10² клеток на см²), в контрольном секторе, обследованном до заселения животных, стафилококки также присутствовали (таблица 1). После заселения секторов животными общая численность микроорганизмов и численность БГКП, энтеробактерий и *Staphylococcus* spp. постепенно увеличивалась во всех секторах (таблица 1). В секторах O1 и O2, в которых проводилась обработка биопрепаратом «БиоБакт «Микроклимат», общее микробное число не превышало 6,0*10⁴ клеток на см² в течение всего эксперимента. В контрольном секторе этот показатель был выше на 2-3 порядка по сравнению с опытными секторами и в конце эксперимента ОМЧ в секторе К достигало 6,0*10⁷ клеток на см² (таблица 1).

Из таблицы 1 также видны различия в численности условно-патогенных микроорганизмов в контрольном и опытных помещениях. Так, на конец эксперимента численность БГКП и энтеробактерий в опытных секторах не превышала 9,5*10⁴ клеток на см², в контрольном секторе зафиксировано присутствие БГКП и энтеробактерий в количестве до 6,0*10⁶ и 6,0*10⁵ клеток на см², соответственно. Аналогичный эффект наблюдался и в отношении представителей рода *Staphylococcus* (таблица 1). Антагонизм *B. subtilis* в отношении кишечной палочки и стафилококков был подтвержден и другими авторами [5-6].

Таким образом, использование биопрепарата «БиоБакт «Микроклимат» для санации секторов опороса в присутствии животных способствовало снижению общего микробного числа, численности бактерий группы кишечной палочки, энтеробактерий и представителей рода *Staphylococcus* в помещениях свинокомплекса. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности антагонистического действия *B. subtilis* в составе биопрепарата «БиоБакт «Микроклимат» в отношении потенциальных возбудителей отдельных инфекционных заболеваний животных. Снижение общей микробной обсемененности и угнетение условно патогенной микрофлоры является предпосылкой для обеспечения здорового микроклимата в животноводческих помещениях.

Таблица 1 – Численность микроорганизмов санитарно-показательных групп

| Неделя | ОМЧ, кл/см ² | БГКП, кл/см ² | Энтеробактерии, кл/см ² | <i>Staphylococcus</i> spp., кл/см ² |
|--------------|-------------------------|--------------------------|------------------------------------|--|
| Сектор К | | | | |
| До заселения | 1,0*10 ¹ | 0 | 0 | 1,0*10 ¹ |
| 1 | 2,5*10 ⁵ | 9,5*10 ⁴ | 2,5*10 ⁴ | 2,5*10 ⁵ |
| 2 | 6,0*10 ⁵ | 2,5*10 ⁶ | 2,5 *10 ³ | 2,5*10 ⁶ |
| 3 | 2,5*10 ⁵ | 2,5*10 ⁵ | 6,0*10 ⁶ | 6,0*10 ⁶ |
| 4 | 2,5*10 ⁶ | 2,5*10 ⁶ | 2,5*10 ⁵ | 6,0*10 ⁶ |
| 5 | 6,0*10 ⁷ | 6,0*10 ⁶ | 6,0*10 ⁵ | 6,0*10 ⁷ |
| Сектор О1 | | | | |
| До заселения | нд | 9,5*10 ² | 0 | 9,5*10 ² |
| 1 | 6,0*10 ² | 9,5*10 ¹ | 9,5*10 ¹ | 2,5*10 ³ |
| 2 | 2,0*10 ⁴ | 2,5*10 ² | 1,5 *10 ² | 9,5*10 ³ |
| 3 | 2,5*10 ⁴ | 2,5*10 ³ | 2,0*10 ² | 4,5*10 ³ |
| 4 | 6,0*10 ⁴ | 9,5*10 ⁴ | 9,5*10 ⁴ | 9,5*10 ⁴ |
| 5 | 6,0*10 ⁴ | 2,5*10 ⁴ | 9,5*10 ⁴ | 2,0*10 ⁵ |
| Сектор О2 | | | | |
| До заселения | нд | нд | нд | нд |
| 1 | 6,0*10 ³ | 4,5*10 ² | 1,5*10 ² | 9,5*10 ² |
| 2 | 2,5*10 ² | 9,5*10 ² | 2,0*10 ¹ | 9,5 *10 ² |
| 3 | 2,5*10 ³ | 2,5*10 ⁴ | 4,5*10 ³ | 2,5*10 ⁵ |
| 4 | 6,0*10 ⁴ | 2,5*10 ⁴ | 2,5*10 ³ | 2,5*10 ⁵ |
| 5 | 6,0*10 ⁴ | 6,0*10 ⁴ | 6,0*10 ³ | 6,0*10 ⁵ |

Примечание: нд – нет данных

Список использованных источников

1. Antibacterial activity of cerein 8A, a bacteriocin-like peptide produced by *Bacillus cereus* /D. Bizani [et al.]// Int. Microbiol. – 2005. – V. 8, № 2. – P. 125–131.
2. Isolation and characterization of a bacteriocin produced by an isolated *Bacillus subtilis* LFB112 that exhibits antimicrobial activity against domestic animal pathogens /J. Xie [et al.]// Afr. J. Biotechnol. – 2009. – V. 8, № 20. – P. 5611–5619.
3. Влияние препарата РИР АНС на микрофлору животноводческих помещений /И.В. Савина, М.С. Сеитов// Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2013. – С. 95-98.
4. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics /C.D. Sumi [et al.]// Can. J. Microbiol. – 2015. – V. 61, № 2. – P. 93–103.
5. Antagonistic activity of cellular components of *Bacillus subtilis* AN11 against bacterial pathogens/B.K. Das [et al.]// Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. – 2014. – V. 3, № 5. – P. 795–809.
6. Antagonistic activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from various sources / A.N. Irkitova [et al.]// Ukrainian Journal of Ecology. – 2018. – V. 8, № 2. – P. 354–364.

Работа выполнена в рамках инициативной НИР.