

Влияние препарата PIP AHS на микрофлору животноводческих помещений

*И.В. Савина, к.в.н., М.С. Сеитов, д.б.н., профессор,
Оренбургский ГАУ*

Воздух как среда обитания для микроорганизмов менее благоприятен, чем почва и вода, потому что в нём содержится очень мало или совсем не содержится питательных веществ, необходимых для размножения микроорганизмов. Тем не менее, попадая в воздух, многие микроорганизмы могут сохраняться в нём более или менее длительное время. Их жизнеспособность в воздушном пространстве обеспечивается наличием взвешенных частиц воды, слизи, пыли, почвы. Именно там, где присутствует большое количество пыли, микроорганизмов особенно много, т.к. они адсорбируются на поверхности этих частиц. В воздухе преимущественно находятся спорообразующие микроорганизмы, дрожжи, плесневые грибы, актиномицеты. Распределение микроорганизмов в воздухе происходит посредством аэрозоля, состоящего из воздуха, капель жидкости или мельчайших твёрдых частиц. Распространение патогенных или условно-патогенных бактерий воздушным путём связано с их устойчивостью к высушиванию [1].

Микрофлора воздуха закрытых помещений более однообразна и относительно стабильна. Среди микроорганизмов доминируют обитатели носоглотки, в том числе патогенные виды, попадающие в воздух при кашле, чихании. Основной источник загрязнения воздуха патогенными видами — бактерионосители. Уровень микробного загрязнения зависит главным образом от плотности заселения, активности движения, санитарного состояния помещения, в том числе пылевой загрязнённости, вентиляции, частоты проветривания, способа уборки, степени освещённости и других условий. Так, регулярные проветривания и влажная уборка помещений снижают обсеменённость воздуха в 30 раз (по сравнению с контрольными помещениями). Самоочищение воздуха в закрытых помещениях не происходит. В помещениях, где не выполняются ветеринарно-санитарные требования, бактериальная загрязнённость воздуха возрастает за счёт условно-патогенных бактерий, гемолитических стрептококков (до 2,4 тыс.), бактерий группы кишечной палочки (до 100 и более в 1 м³), синегнойной палочки, пастерелл и стафилококков. Перечисленные бактерии, а

также вирусы могут быть причиной так называемых массовых многофакторных заболеваний (желудочно-кишечных, лёгочных), особенно у молодняка.

В настоящее время нормативов для определения допустимого уровня бактериальной загрязнённости воздуха животноводческих помещений нет. Воздух животноводческих помещений считают относительно чистым, если в нём содержание бактерий не превышает 100 000 в 1 м³. Установлено, что высокая бактериальная загрязнённость воздуха является стрессовым фактором, снижает продуктивность животных, увеличивает расход кормов. Доказано наличие прямой корреляции между концентрацией микроорганизмов и состоянием здоровья животных [2].

Используемые в настоящее время в ветеринарии продукты очистки и средства дезинфекции не всегда эффективны и безвредны, поэтому возникла необходимость в радикально новом подходе к этой проблеме. В её решении важное место отводят пробиотикам. Разработка пробиотических препаратов относится к числу приоритетных направлений ветеринарии.

Среди наиболее безопасных и доступных методов очистки воздуха выделяют применение моющих пробиотиков PIP (Probiotics In Progress) — это новое поколение моющих средств, содержащих полезные бактерии, вытесняющие болезнетворные бактерии. Механизм действия моющих пробиотиков основан на принципе вытеснения в сочетании с влиянием на разобщение патогенных организмов через способность к «чувству кворума». Идея действия пробиотиков методом конкурентного вытеснения такова: слой пробиотических бактерий наносится на обрабатываемую поверхность, что приводит к немедленному их распространению; они стремительно поглощают всю оставшуюся пищу (включая мёртвый органический материал путём некротрофии), ничего не оставляя потенциальным патогенным захватчикам, стремящимся найти пространство для обитания и пищу; помимо конкурентного вытеснения моющие пробиотики оказывают влияние и на «чувство кворума» патогенных бактерий, а это представляет собой чрезвычайно быстрый способ общения бактерий друг с другом посредством сигнальных молекул. Как только пробиотические бактерии нанесены на поверхность, патогенные организмы, обладая способностью к «чувству кворума», посылают друг другу сообщение о наступлении неблагоприятных условий, погружающих их в пассивное метаболическое состояние [3, 4].

Цель исследования — изучение действия препарата Probiotics In Progress Animal House Stabiliser (PIP AHS) — стабилизатора микрофлоры животноводческих помещений, предназначенного для формирования стабильной

и здоровой микрофлоры в местах содержания животных, производимого бельгийской компанией «Chrisal NV», в условиях стационара для животных Оренбургского ГАУ.

Материалы и методы. Объектами исследования стали препарат Probiotics In Progress Animal Housing Stabiliser (сертификат соответствия № РОСС ВЕ.АГОЗ.НОО13), пробы воздуха и смывы с поверхности стен, кормушек, пола, предметов ухода, отобранные в стационаре для животных общей кубатурой 112 м³.

Отбор проб воздуха проводили в соответствии с ГОСТом Р ИСО 16000-1-2007 «Воздух замкнутых помещений», ч. I «Отбор проб». При этом для выделения микроорганизмов использовали седиментационный метод. В ходе исследования отобрали 50 проб и выделили 55 штаммов микроорганизмов. Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили по методу Биргера [5], определение антагонистической активности — по методу Е.А. Постниковой [2].

Результаты исследования. Из препарата PIP AHS был выделен пробиотический штамм, который с помощью автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact идентифицировали как *Bacillus licheniformis*. Морфологически штамм был представлен грам-положительными, толстыми короткими палочками, образующими центрально расположенные эндоспоры. Клетки располагались поодиночке или небольшими конгломератами, редко образуя цепочки. На МПА выделенный штамм образовал колонии средние и крупные, максимальный диаметр которых составлял 0,8–1,1 см, правильной формы, с плоским рельефом. В центре колонии наблюдалось плотное матовое уплотнение желтоватого цвета, вокруг него располагалась прозрачная складчатая кайма. Колонии непрозрачные, матовые. Не врастали в агар и легко отделялись от него. Цвет белый с желтоватым оттенком.

Обработку помещения препаратом PIP AHS проводили после предварительного исследования общей микробной обсеменённости воздуха седиментационным методом Коха и обсеменённости объектов (стен, кормушек, пола) методом отбора проб с поверхности. После влажной очистки провели обработку помещения рабочим раствором препарата PIP AHS (концентрат препарата взбалтывали, из него готовили 10-процентный рабочий раствор при температуре 30–50°C). Обработку повторяли ежедневно в течение пяти дней при помощи опрыскивателя гидравлического ручного. Нормы расхода составляли 1 л рабочего раствора на 170–200 м², срок годности рабочего раствора — 5 суток. Обработку проводили в присутствии животных после кормления, поскольку, согласно инструкции, присутствие животных было даже желательно.

Через сутки после последней обработки были вновь взяты пробы воздуха и смывы с объектов данного помещения и исследованы общая микробная обсеменённость; обсеменённость санитарно-показательными микроорганизмами; спорами плесневых грибов.

Исследование показало, что все перечисленные ранее показатели в данном помещении находились в пределах допустимой нормы. Согласно ветеринарно-санитарным требованиям, в животноводческих помещениях допускается не более 100 тыс. микробных тел на 1 м³ воздуха, количество спор плесневых грибов – не более 20, количество санитарно-показательных микроорганизмов – не более 16 в 1 м³.

После обработки препаратом PIP AHS общая численность микроорганизмов увеличилась в 4,7 раза и достигла 4300 микробных тел в 1 м³, но при этом на долю *B. licheniformis* приходилось 88,8%. Количество санитарно-показательных микроорганизмов, к которым относятся гемолитические стрептококки и стафилококки, снизилось на 65,8%. Количество спор плесневых грибов уменьшилось на 76%.

Таким образом, после обработки препаратом PIP AHS значительно возростала численность *B. licheniformis*, а количество других микроорганизмов резко снижалось (рис. 1).

При исследовании объектов стационара установлено, что в начале опыта общая бактериальная обсеменённость пола составила $5 \cdot 10^5$, стен – $9 \cdot 10^4$, кормушек – $65 \cdot 10^3$ КОЕ/см². В конце эксперимента после применения препарата PIP AHS микробная обсеменённость увеличилась, но это произошло за счёт роста *B. licheniformis*, на долю которого приходилось от 75 до 78% (табл.).

Видовой и количественный состав микрофлоры, выделенный из воздуха до обработки, был следующим: *Staphylococcus aureus* (19%); *Bacillus mycoides* (19%); споры плесневых грибов (16%); *Bacillus subtilis* (12%); *Escherichia coli*

(12%); *Sarcina flava* (8%); *Bacillus mesentericus* (8%); *Proteus vulgaris* (6%).

Видовой и количественный состав микрофлоры, выделенной с различных поверхностей в стационаре до обработки препаратом, был следующим: *Escherichia coli* (27%); *Staphylococcus aureus* (18%); споры плесневых грибов (18%); *Bacillus subtilis* (15%); *Enterococcus faecalis* (13%); *Proteus vulgaris* (9%).

После обработки препаратом значительно сократилось количество *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, но по-прежнему преобладали бациллы и споры плесневых грибов (без учёта *B. licheniformis*). С поверхности пола, стен, кормушек до обработки преимущественно выделялись *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; споры плесневых грибов и бациллы, после обработки преобладали бациллы и споры плесневых грибов (без учёта *B. licheniformis*).

Среди разнообразных форм взаимоотношений микроорганизмов, находящихся в естественных местах обитания, особый интерес привлекают антагонистические взаимоотношения, которые характеризуются тем, что один вид микроорганизмов так или иначе подавляет развитие или задерживает рост других микроорганизмов [2].

В работе была исследована антагонистическая активность штамма *B. licheniformis* в отношении 20 выделенных из воздуха и смывов с поверхности штаммов, наиболее значимых в развитии инфекций (*E. coli* – 5, *S. aureus* – 4, *E. faecalis* – 3, *P. Vulgaris* – 7). Полученные данные представлены на рисунке 2.

В результате исследования антагонистической активности *B. Licheniformis* установлено, что наиболее высокая активность наблюдалась в отношении штаммов *S. aureus* и *E. col*, менее – в отношении *P. vulgaris* и *E. faecalis*.

Таким образом, исследования действия препарата Probiotics In Progress Animal House Stabiliser

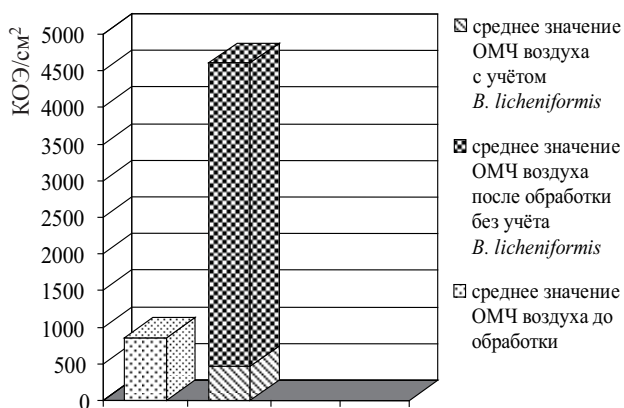


Рис. 1 – Микробная обсеменённость воздуха до и после обработки препаратом PIP AHS

Микробная обсеменённость поверхностей объектов стационара для животных до и после обработки препаратом PIP AHS, КОЕ/см²

Объект помещения	До обработки	После обработки
Пол	$5 \cdot 10^5$	$\frac{16 \cdot 10^5}{4 \cdot 10^5}$
Стены	$9 \cdot 10^4$	$\frac{31 \cdot 10^4}{81 \cdot 10^3}$
Кормушки	$65 \cdot 10^3$	$\frac{26 \cdot 10^4}{58 \cdot 10^3}$

Примечание: в числителе микробная обсеменённость с учётом *B. licheniformis*, в знаменателе – без учёта *B. licheniformis*

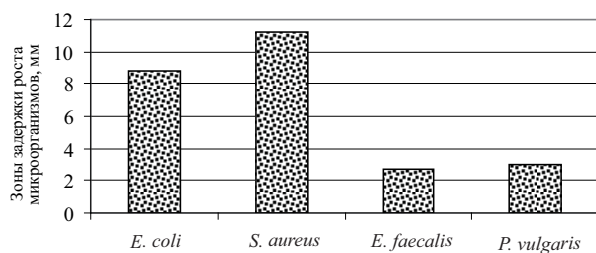


Рис. 2 – Антагонистическая активность *B. licheniformis* в отношении исследуемых штаммов

(PIR AHS) в условиях стационара для животных, показали его высокую эффективность, особенно в отношении условно-патогенных микроорга-

низмов, что позволяет рекомендовать препарат в качестве моющего пробиотического средства для стабилизации микрофлоры в животноводческих помещениях.

Литература

1. Кузнецов А.Ф., Наиденский М.С., Шуканов А.А. и др. Гигиена животных М.: Колос, 2001. 368с.
2. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. 528 с.
3. Похиленко В.Д., Перелыгин В.В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность // Новости медицины и фармации. 2008. № 18. С. 56–63.
4. Смирнов В.В Резник С.Р., Вьюницкая В.О. Современные представления о механизмах лечебно-профилактического действия пробиотиков из бактерий рода *Bacillus* // Микробиологический журнал. 1993. № 4. С. 92–112.
5. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. М.: Медицина, 1982. 229 с.