

УДК 579.61

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

*Семенова В.О., студент факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии
Научный руководитель – Васильева Ю.Б., кандидат
ветеринарных наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: *микробиом, лабораторные животные, микробиологическое исследование, пробиотики.*

В статье рассматриваются результаты изучения микробиома кишечника лабораторных животных.

Исследования проведены при поддержке Фонда содействия инновациям.

Нормофлора желудочно-кишечного тракта является высокоорганизованной системой, реагирующей качественными и количественными изменениями на динамическое состояние организма в различных условиях внутренней среды [1].

Микробиота кишечника, представляющая собой совокупность видов различных микроорганизмов, обладает огромным метаболическим потенциалом и способна осуществлять множество биохимических и физиологических процессов, включая энергетическое и тепловое обеспечение, трофические функции, питание и пролиферацию кишечного эпителия, защитные функции, стимуляцию иммунной системы [2].

Вследствие этого, при нарушениях кишечного микробного фона необходима своевременная и квалифицированная его коррекция [3].

Целью данного исследования явилось изучение микробиоты кишечника лабораторных животных.

Работа проводилась на базе научно-исследовательского инновационного центра микробиологии и биотехнологии кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ВСЭ» ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ [4-8]. Бактериологические исследования проводили по общепринятым в микробиологии методам.

Работу проводили на кроликах пород Серый великан и Бабочка.

Мы провели исследование кишечного микробиома 30 проб от

лабораторных животных. Исследованию подвергали мазки из прямого отдела толстого кишечника (рис. 1).

Забор материала производили стерильными ватными палочками, после чего помещали их в пробирки с питательным бульоном. Пробы в течении получаса были доставлены в лабораторию и помещены в термостат при температуре 37°C на 24 ч. Затем сделали посевы на плотную питательную среду МПА, для получения изолированных колоний с последующим их изучением. Термостатирование при 37°C 48 ч. Следующим этапом нашей работы была окраска и микроскопия полученных нами колоний микроорганизмов. Затем были поставлены начальные тесты по идентификации микроорганизмов: тест на оксидазную и каталазную активность. Для определения сахаролитических свойств использовали среды Гисса с глюкозой, лактозой, мальтозой, маннитом, сахарозой, дульцитом, сорбитом, крахмалом, декстрозой. Для определения протеолитического разжижения желатина использовали питательный бульон содержащий 12% пищевого желатина. Для ускоренной биохимической идентификации энтеробактерий использовали тест-систему «Рапид-энтеро 200 М» (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера). Результаты учитывали через 4, 6 и 12 ч.

Мы выявили следующие характерные признаки для энтеробактерий: грамотрицательные палочки, на плотной питательной среде образуют колонии серовато-белого цвета, при росте на жидкой среде – помутнение и осадок. Оксидазоотрицательны и каталазоположительны. Согласно литературным данным сальмонеллы сбраживают углеводы (глюкозу, маннозу, ксилозу, декстрин) и спирты (инозит, дульцит) с образованием кислоты, а иногда и газа. Не разжижают желатин, образуют сероводород, не образуют индол. Дают положительную реакцию с метиловым красным: среда окрашивается в розово-красный цвет, отрицательную реакцию Фогеса-Проскауэра – желтое окрашивание среды.



Рисунок 1 - Забор биоматериала из прямой кишки кролика.

Мы выявили признаки характерные для стафилококков: грамположительные коковидной формы, ферментируют с образованием кислоты без газа глюкозу, мальтозу, фруктозу, сахарозу, ксилозу, глицерин, маннит и не разлагают дульцит, салицин, инулин, раффинозу. Выделяют аммиак и сероводород, не образуют индол, восстанавливают нитраты в нитриты; продуцируют каталазу, фосфатазу, уреазу. Свертывают и пептолизуют молоко, разжижают желатин, иногда свернутую сыворотку крови.

Также выявили признаки характерные для стрептококков: на мазках после окраски по Граму имеют фиолетовый цвет, выглядят короткими цепочками. Ферментируют углеводы и не обладают протеолитическими свойствами. На плотных средах формируют мелкие плоские сероватые колонии, на жидких средах дают крошковатый пристеночный и придонный рост.

Выявили признаки характерные для аэромонад: подвижные грамотрицательные мелкие палочки, ферментативно активны, сахара расщепляют с образованием кислоты, положительны по аргининдигидролазе и отрицательны по орнитиндекарбоксилазе, отрицательны на уреазу, восстанавливают нитраты и разжижают желатиназу, продуцируют оксидазу, каталазоположительны.

Выявили признаки характерные для псевдомонад: подвижные грамотрицательные палочки. Каталазо и оксидазоположительны. Ферментируют только глюкозу и разжижают желатин.

Мы отнесли штаммы к бифидобактериям грамположительные, неподвижные, неспорообразующие, не образующие в процессе жизнедеятельности газы, анаэробные, каталазо-отрицательные, сахаролитические микроорганизмы. Все они были хемоорганотрофы, активно сбраживали углеводороды. При окрашивании препарата бифидобактерий по Граму, в некоторых мазках была заметна биполярность. Иногда они были похожи на цепочку кокков. Они также могли располагаться поодиночке, в парах, образовывать фигуры V-образной формы. На плотных питательных средах бифидобактерии образовывали разнообразные по форме и цвету колонии: плоские, полушаровидные, блестящие, шероховатые, окруженные валиком, имеющие более темный центр, от белого и серого до темно-коричневого. Размеры колоний составляли от 0,5 до 4,0 мм.

Лактобактерии в мазке регистрировали, как палочки, которые размещались одиночно, попарно или короткими цепочками. Они были неподвижны, спор и капсул не образовывали, окрашивались грамполо-

ложительно. Молочнокислые палочки являются факультативными анаэробами. На обычных питательных средах они не культивировались, поэтому для их в питательную среду мы добавляли стерильное молоко. На плотных питательных средах формировались мелкие гладкие блестящие колонии сферической формы.

Таким образом, исходя из полученных результатов изучения морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств установили наличие энтеробактерий в 27 пробах (90%), кишечной палочки в 25 (83%), стрептококков в 5 пробах (17%), аэромонад в 2 пробах (7%), псевдомонад в 2 пробах (7%), бифидобактерий в 24 пробах (80%), лактобацилл в 6 пробах (20%) и стафилококков в 2 пробах (7%). По результатам изучения гемолитической активности данные штаммы не проявили патогенных свойств.

Библиографический список:

1. <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/ru/mikrobiota-kishechnika>
2. <https://prokishechnik.info/anatomiya/mikroflora/mikrobiota-kishechnika.html>
3. Методические рекомендации по изучению микробиоты кишечника с целью коррекции питания и фармакологического обеспечения спортсменов. – Москва, 2013. – 31 с.
4. Вопросы биоконтроля пищевого листериоза/ Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина, И.Г. Швиденко, Б.И. Шморгун // Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием . 2015. С. 157.
5. Выделение и селекция бактериофагов *Bacillus coagulans*/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, К.В. Белова, К.В. Шокина, М.А. Лыдина, К.В. Маслюкова, А.В. Алешкин, Б.И. Шморгун // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности Материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 87.
6. Апробация схемы выделения возбудителя американского гнильца пчел/ М.А. Лыдина, Е.И. Климушкин, Ю.А. Райчинец, К.В. Кудряшова, Б.И. Шморгун // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VI Международной научно-практической конференции. 2015. С. 102-106.
7. Схема идентификации *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, В.А. Макеев, А.И. Калдыракаев, К.В. Маслюкова, А.В. Алешкин, Б.И. Шморгун // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, вете-

ринарии и пищевой промышленности: материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 88.

8. Биоиндикация *Vacillus anthracis* в пробах почвы методом постановки реакции нарастания титра фага/ С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.И. Климушкин, К.В. Белова, Б.И. Шморгун, И.Г. Швиденко //Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2016. № 4 (20). С. 55-64.

THE STUDY OF THE MICROBIOME OF THE INTESTINE OF LABORATORY ANIMALS

Semenova V. A.

Key words: *microbiome, laboratory animals, microbiological examination, probiotics..*

The article deals with the results of the study of intestinal microbiome of laboratory animals.