

УДК: 612.051.3

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ПРОБИОТИКА НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Дежаткин И.М., аспирант

Феоктистова Н.А., кандидат биологических наук, доцент,

тел.: 89372745876, feokna@yandex.ru

Дежаткин М.Е., кандидат технических наук, доцент,

тел.: 89084901648, pineapple01092000@gmail.com

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

***Ключевые слова:** пробиотик, бактерия, спора, пищеварение, токсичность, лабораторные животные, мыши.*

*Приведены результаты доклинических испытаний пробиотика на основе спорообразующих бактерий *Bacillus coagulans* на лабораторных мышах. Изучена токсичность, поставлена биопроба на мышах с целью выявления клиники заболевания, патогенеза и проявления профилактического действия разработанной биодобавки.*

**Исследования проводятся в соответствии с тематическим планом
научно-исследовательских работ, выполняемых
по заданию МСХ РФ в 2025 году.**

Введение. Из литературы [2-3, 9-10] известно, что пробиотики состоят из живых полезных бактерий, способных жить и выполнять свою роль в пищеварительном тракте человека и животного. Особый интерес исследователей вызывает лактобактерия *Bacillus coagulans*, которая является нетоксичной, спорообразующей грамположительной микроаэрофильной палочкой, может разлагать и утилизировать различные пентозы, гексозы и синтезировать молочную кислоту. Эта бактерия характеризуется положительными свойствами: кислотостойкость, устойчивостью к высоким температурам, высокой адгезией, удалением свободных радикалов. В желудке и кишечнике под влиянием пищеварительных соков *Bacillus coagulans* проявляет высокую устойчивость к соляной и холевой кислоте, имеет среднюю

выживаемость до 51 % [5, 11]. В споровой форме бактерия устойчива к действию желудочного сока и желчи, не поддается лизису в процессе производства и хранения. К полезным свойствам бактерии *Bacillus coagulans* также относят: их интенсивный рост, колонизируют кишечный тракт и подавляющий патогенную микрофлору; возможность стабилизировать микрофлору кишечника; отсутствие признаков патогенности; способность сохранять жизнеспособность как в продуктах питания, так и в лекарствах. В кишечнике споры прорастают в вегетативные бактерии и проявляют пробиотическую активность, выполнив свою функцию и покидая организм хозяина они не меняют состав индивидуальной его микрофлоры [4-6]. Современные учёные называют *Bacillus coagulans* «королем пробиотиков» за её высокую стабильность в пищеварительном тракте, не токсичность и фармакологическую активность. Эта бактерия используется как компонент для различных пищевых и кормовых добавок, лекарственных препаратов, проявляющих высокую клиническую эффективность [3, 7-8, 11-13]. Для организма человека и животного *Bacillus coagulans* помогает устранить вздутие живота, заболевания пищеварения, облегчает газообразование, балансирует кишечную флору, нормализует усвоение питательных веществ, вырабатывает молочную кислоту, выделяет протеиназы, полипептидазы, липазы, повышает активность лактазы и лактатдегидрогеназы, превращающих лактозу в молочную кислоту. Установлена её ингибиторская активность в отношении гнилостных бактерий выработкой бактериоцинов: коагулина, педиоцина и лактоспорина [9, 10, 14-15].

Материалы и методы исследований. Доклинические испытания проводились с целью дать оценку влияния биопрепарата на основе бактерий *Bacillus coagulans* на организм лабораторных животных. Задачи исследования:

- 1) изучить токсичность разработанного пробиотического препарата *Bacillus coagulans* на лабораторных животных;
- 2) поставить биопробу, с бактериальным заражением лабораторных мышей кишечной инфекцией при использовании разработанного пробиотика.

Для выполнения первой задачи мы сформировали 4 группы из лабораторных мышей по 20 животных в группу (средним весом одной мыши - 32,1 г) (таблица 1). Условия содержания были одинаковые, в стандартных клетках при 12-часовом световом режиме, со свободным доступом к воде и еде.

Таблица 1 - Результаты опыта

Группа	Количество препарата	Результат испытаний, гол		
		заболело	пало	выжило
1-группа (контроль)	0,5 мл дистил. воды	-	-	20
2-группа (опыт)	0,5 мл 10 ⁷ КОЕ пробиотика	-	-	20
3-группа (опыт)	0,6 мл 10 ⁷ КОЕ пробиотика	-	-	20
4-группа (опыт)	0,7 мл 10 ⁷ КОЕ пробиотика	взъерошенность шерсти	-	20

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты показали, что при изучении острой токсичности пробиотической композиции на основе *Bacillus coagulans* не было выявлено ЛД₅₀, это позволило нам остановиться на 2-х дозировках 0,5 и 0,6 мл 10⁷ КОЕ пробиотика, что соответствует объему желудка мыши. В ходе опыта пробиотик с кусочками хлеба давали энтерально раз/сут/гол на голодный желудок в течение 30 дней. По завершению проводили убой, вскрытие и осмотр внутренних органов, согласно существующим требованиям и методикам. Отбирали пробы печени и крови. Результаты обрабатывали по программе "Statistika". Для установления хронической токсичности у мышей 1-й, 2-й и 3-й групп вели наблюдение за состоянием шерсти, поведением и активностью, слизистыми и стулом. В ходе опыта не было установлено выраженных нарушений и изменений, подопытные мыши были клинически здоровыми и хорошо прибавляли в весе. Скармливание дозировки 0,7 мл 10⁷ КОЕ показало отрицательные эффекты, у мышей 4-й группы общее состояние было угнетённым, болезненным, активность слабая, шерстный покров запачканный и взъерошенный, анализ биохимические параметры показал повышенную активность АСТ (на 23,4 %) и АЛТ (на 33,8 %), глюкозы (на 29,4 %), общего белка (на 23,3 %), при снижении уровня креатинина (на 28,3 %), указывающего на уменьшение живой массы

лабораторных животных, нарушения в тканях печени и обменных процессах.

Для решения 2-й задачи была поставлена биопроба на 20 лабораторных мышах с целью выявления клиники заболевания, патогенеза и проявления профилактического действия разработанной биодобавки. Животных сформировали в 4 групп – аналогов по 5 в каждой (средней живой массой одной мыши - 14-18 г). Методика опыта была аналогичной первой. В течение двух недель мышам давали по схеме энтерально 1 раз в день каждому животному на голодный желудок биопрепарат. На 15 день провели бактериальное заражение кишечной инфекцией (подкожно в область брюшной части тела в дозе 0,2 мл микробной взвеси бактерий: *Escherichia coli* (гемолитическая), *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris*, *Proteus vulgaris mirabilis*, *Morganella morganii*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*). В исследованиях использовали титр – 10^8 м.к./мл, лечение заболевших мышей не проводили, вели учёт выживаемости.

Заключение. Было установлено, что падеж мышей наблюдали в 1-й и во 2-й группе начался уже впервые сутки, к 3-им суткам их сохранность составила 40 %. В 3 и 4-й группах, где использовали разработанный пробиотик на основе *Bacillus coagulans* выживаемость мышей на 3 сутки достигала 100 %. В трупах павших мышей на 3-е сутки диагностировали явления гемолитической анемии, что проявилось признаками геморрагического синдрома и незначительной желтухи. В миокарде, печени, почках, легких наблюдались выраженные в различной степени необратимые повреждения тяжелого сепсиса.

Библиографический список:

1. Арбузова, А.А. Управление микрореконструкцией организма продуктивных животных-альтернативный метод оздоровления и обеспечения продовольственной безопасности /А.А. Арбузова // Ветеринарный консультант. - 2007. - №14. - С.16-14.
2. Биодобавки на основе модифицированного и обогащённого аминокислотами цеолита при выращивании молодняка индеек / С.В.

Дежаткина, Н.А. Феоктистова, Е.В. Панкратова, Н.А. Проворова, Е.С. Салмина // Аграрная наука. - 2021. - №11-12. – С.20-23.

3. Волчков, А.А. Сорбционно - пробиотическая добавка в рационе коров и ее влияние на морфобиохимический состав крови и продуктивность / А.А. Волчков, Ю.К. Волчкова, В.Е. Улитко В.Е., О.Е. Ерисанова, О.А. Десятков, Л.А. Пыхтина // Ветеринарный врач. - 2020. - № 3.- С. 4-10.

4. Влияние добавки насыщенного аминокислотами структурированного цеолита на размножение лабораторных мышей / М.А. Акимова, С.В. Дежаткина, Е.С. Салмина, В.В. Ахметова, М.Е. Дежаткин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2024. - Т. 258. - № 2. - С. 9-13.

5. Данилевская, Н.В. Фармакологические аспекты применения пробиотиков в ветеринарии / Н.В. Данилевская //Ветеринария сельскохозяйственных животных, 2012. - № 10. - С. 8-14.

6. Динамика прироста живой массы цыплят-бройлеров при использовании цеолит-пробиотической добавки / Е.С. Салмина, С.В. Дежаткина, Н.А. Феоктистова, О.О. Жукова // В сб.: Наука и инновации в высшей школе. Материалы международной научно-практической конференции. Ульяновск, 2024. С. 167-176.

7. Молянова, Г. В. Воздействие препарата на основе *Bacillus subtilis* на росто-весовые параметры телят голштинно-фризской породы / Г. В. Молянова, М. П. Ноготков // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021 – № 1 – С. 46-51.

8. Подбор минеральной матрицы для конструирования кормовой добавки, обогащённой микробиологическим консорциумом с пробиотическим действием / Н.А. Феоктистова, С.В. Дежаткина, А.М. Чекалин, Е.А. Чекалина // В сб.: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы XIV Международной научно-практической конференции. Ульяновск, 2024. - С. 226-232.

9. Похиленко, В.Д. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность / В.Д. Похиленко, В.В. Перелыгин // Химическая и биологическая безопасность. - 2007. - № 2-3 (32-33).

10. Сверчкова, Н.В. Пробиотические препараты на основе бактерий рода *Bacillus* для животноводства, птицеводства и промышленного рыбоводства /Н.В. Сверчкова// Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. - 2020. – Т. 12. – С. 252-264.

11. Феоктистова, Н.А. Разработка биокомпозиции как компонента для коррекции микроэкологии желудочно-кишечного тракта продуктивных животных и птицы / Н.А. Феоктистова, С.В. Дежаткина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2023 - № 2(62). – С. 122-128.

12. Феоктистова, Н.А. Изучение некоторых биологических свойств бактериальных штаммов *Bacillus coagulans* (*weizmannta coagulans*) - кандидатов при разработке пробиотического биопрепарата / Н.А. Феоктистова, С.В. Дежаткина // В сборнике: Аграрная наука на современном этапе развития. Материалы научно-практической конференции. Ульяновск, 2023. – С. 342-349.

13. Шаронина, Н.В. Влияние спорообразующих бактерий *Bacillus coagulans* на уровень глюкозы лабораторных животных при изучении хронической токсичности / Н.В. Шаронина, А.З. Мухитов, С.В. Дежаткина // В сборнике: Аграрная наука на современном этапе развития. Материалы научно-практической конференции. Ульяновск, 2023. – С. 322-325.

14. Патент на изобретение RU 2831162 C1, 02.12.2024. Регулятор продуктивности, качества продукции и обмена веществ у крупного рогатого скота / В.Я. Давыденко, В.А. Гервер, А.В. Федоров, Е.В. Панкратова, Е.С. Салмина, Н.А. Феоктистова, С.В. Дежаткина. Заявка №2024105172 от 29.02.2024.

15. Obtaining organically pure milk using natural highly activated zeolites from deposits in the European zone of Russia /S. Dezhatkina, N. Feoktistova, N. Provorova E. Salmina //International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. - 2022. - Т. 13. - № 10. - С. 13A10K.

PRECLINICAL PROBIOTIC TRIALS ON LABORATORY ANIMALS

Dezhatkin I.M., Feoktistova N.A., Dezhatkin M.E.

Keywords: *probiotic, bacteria, spore, digestion, toxicity, laboratory animals, mice.*

*The results of preclinical trials of a probiotic based on the spore-forming bacteria *Bacillus coagulans* on laboratory mice are presented. The toxicity was studied, and a bioassay was performed on mice in order to determine the clinic of the disease, pathogenesis, and manifestation of the preventive effect of the developed dietary supplement.*