

Т. Г. КОЛЬЦОВА

ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИЗМА И МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ АЦИДО- ФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ НА МИКРОБЫ ИЗ СЕМЕЙСТВА *coli typhus**

С целью профилактики инфекционных болезней молодняка сельскохозяйственных животных в настоящее время широко применяются препараты из культур ацидофильных бактерий (ацидофин, АБК, ПАБК). Ацидофильные бактерии действуют на гнилостную, условнопатогенную и патогенную микрофлору в желудочно-кишечном тракте животных.

Однако о механизме действия ацидофильных микробов в литературе нет единого мнения. А. Ф. Войткевич установил, что под действием ацидофильных бактерий в микрофлоре толстых и прямых кишок молодняка снижается количество представителей из группы *coli* и гнилостных бактерий, а количество молочнокислых бактерий резко повышается; одновременно снижается рН среды. М. М. Иванов считает, что бактерицидное действие оказывают не молочнокислые бактерии, а образованная ими молочная кислота. По данным М. С. Полонской, ацидофильные бактерии наряду с молочной кислотой образуют специфические вещества, оказывающие антибиотические действия на *Bact. coli*.

Ф. З. Амфитеатовым, М. И. Айзатуловым, А. Д. Буровым, А. Ф. Войткевичем и другими исследователями, а также нашими наблюдениями установлено, что при лечении больных паратифом и колибациллезом животных различного вида более эффективно действуют видово-специфические ацидофильные бактерии. Однако в доступной нам литературе не удалось найти данных об особенностях антагонизма видово-специфических ацидофильных бактерий по отношению к условнопатогенным микробам из семейства *coli typhus*, выделенных от животных.

В наших исследованиях изучались антагонистические свойства и механизм действия ацидофильных бактерий, выделенных из кишечника телят, поросят и кур, на микробов из семейства *coli typhus*, свойственных указанным видам животных. Исследования проводили *in vitro*. Ацидофильную палочку выделяли от здоровых животных молочного периода методом самоочище-

* Работа доложена на научной конференции Витебского ветеринарного института 14 июля 1963 г.

ния при неоднократных пересевах на стерильный обрат, сывороточный агар и агар с лактозой по общепринятой методике. Для изучения антагонизма и механизма их действия на бактерий из семейства *coli typhus* использовали активные штаммы ацидофильных бактерий, свертывающие молоко через 10—12 часов в ровный плотный сгусток, сбразивающие лактозу и сахарозу и растущие в молоке с 0,4% фенола, типичные по морфологическим и другим свойствам.

Одновременно поставили контроль с ацидофильными бактериями стандартных заквасок, изготовленных лабораторией Всесоюзного молочного института (стерильным обратом, молочной сывороткой, полученной воздействием сычужного фермента на стерильный обрат, и молочной сывороткой, полученной самоквасом из обрата).

В качестве тест-микробов использовали штаммы *Bact. c. communis*, *Bact. enteritidis gärtneri*, *Bact. enteritidis breslau*, *Bact. suipestifer*, *Bact. typhi suis*, *Bact. pullorum*.

Антагонистическое действие ацидофильных бактерий изучали двумя методами: 1) блоки агаровых культур ацидофильных бактерий вырезали стеклянной трубочкой определенного диаметра и накладывали на МПА, засеянный суспензией тест-микробов в бактериологических чашках; 2) суспензию тест-микробов засеивали в бактериологических чашках на МПА и на поверхность накладывали цилиндрики из стекла в диаметре 0,6 см, высотой 1 см на равном расстоянии друг от друга. В каждый цилиндрик наливали по 1 мл ацидофильного молока, чашки помещали в термостат на 72 часа при температуре 37° и через разные промежутки времени наблюдали за зоной роста бактерий вокруг блоков и цилиндриков.

Блоки агаровых культур ацидофильных бактерий и ацидофильное молоко получали путем культивирования различных штаммов ацидофильных бактерий на сывороточном агаре и стерильном обрате в термостате при температуре 40° в течение 24 часов.

Во всех 10 опытах вокруг блоков наблюдали более выраженную зону отсутствия роста бактерий, свойственных определенному виду животных. Например (см. рис. 1), на МПА, засеянном *Bact. c. communis*, выделенной от теленка (1-я позиция), зона отсутствия роста значительно большая, чем зона роста ацидофильных бактерий, выделенных от курицы и поросенка (2 и 3-я позиции на рис. 1). Вокруг четвертого блока ацидофильных бактерий стандартной закваски (4-я позиция) антибиотической зоны нет.

Характер роста тест-микробов вокруг цилиндриков изучен в 8 опытах. Во всех опытах различные штаммы ацидофильных бактерий, выделенные от телят, оказывали бактерицидное действие на *Bact. c. communis* и совсем не действовали на *Bact. suipestifer*. Вокруг цилиндриков с культурой ацидофильных бак-

терий, выделенных от поросят, роста *Bact. suispestifer* и *Bact. typhi suis* не было. Куриные штаммы ацидофильных бактерий задерживали рост *Bact. pullorum* и слабо действовали или не действовали вовсе на *Bact. c. communis*, *Bact. suispestifer*, *Bact. enteritidis breslau*. Различные штаммы стандартной закваски оказывали более слабое антибиотическое действие на тест-микробы. Например, в опыте с *Bact. pullorum* вокруг цилиндрика с ацидофильным молоком, сквашенным ацидофильными бактериями, которые получены от курицы, зона отсутствия роста была размером 1,8 см в диаметре, а ацидофильными бактериями, выделенными от теленка, — 0,9, от поросенка, — 1,0; стандартными ацидофильными бактериями (Всероссийского молочного института) — только 0,8 см. Аналогичное действие наблюдалось в других опытах.

Образование зоны угнетения роста тест-микробов различного диаметра, свойственных определенному виду животных, указывало на видово-специфическую активность ацидофильных бактерий.

Для изучения механизма действия специфических культур ацидофильных бактерий на тест-микробы в свернувшемся ровным, плотным сгустком обрате определяли рН потенциометром ЛП-58. Затем ацидофильное молоко нагревали на водяной бане до свертывания белка. В полученной сыворотке после пастеризации в течение 10 минут при температуре 75—80°C и фильтрации через фильтр Зейтца вновь определяли рН. Далее нейтрализовали сыворотку 1N раствором NaOH до рН 7,0. Стекланные цилиндрики на поверхности МПА, засеянного тест-микробами, заполняли ацидофильным молоком или молочной сывороткой. Чашки ставили в термостат и через различные промежутки времени наблюдали за ростом бактерий вокруг цилиндриков.

Механизм действия ацидофильных бактерий изучен в 10 опытах, которые показали, что после пастеризации и фильтрации молочной сыворотки в большинстве случаев зона отсутствия

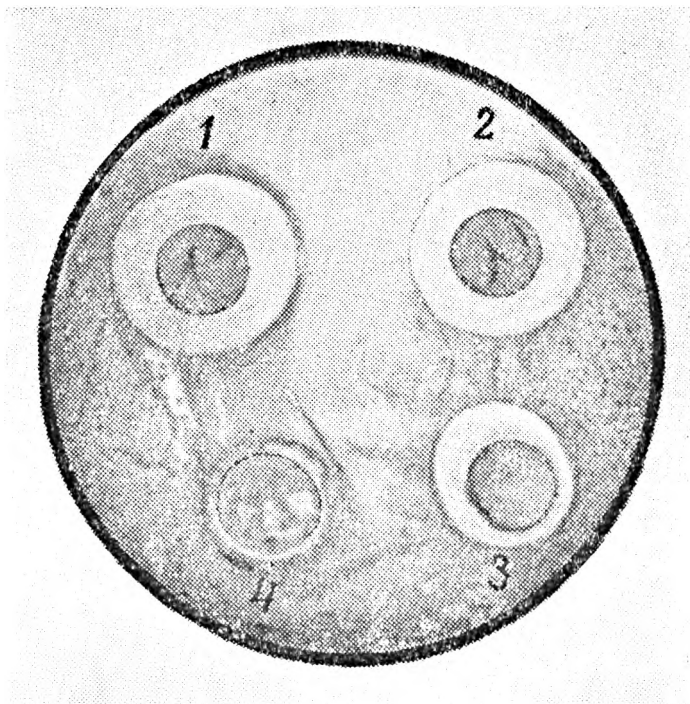


Рис. 1. Блоки агаризированных ацидофильных бактерий, нанесенные на МПА, который засеян культурой *coli communis* от теленка:

1 — ацидофильные бактерии от теленка (зона отсутствия роста 1,4 см в диаметре); 2 — ацидофильные бактерии от курицы (зона отсутствия роста 1,3 см в диаметре); 3 — ацидофильные бактерии от поросенка (зона отсутствия роста 0,9 см); 4 — культура стандартной закваски (антибиотической зоны нет).

роста не изменялась, хотя рН незначительно повышалась. После нейтрализации молочной сыворотки до рН 7,0 зона отсутствия роста сохранялась, но была меньшего диаметра. На рис. 2 показана зона действия ацидофильных бактерий, выделенных от теленка (1), поросенка (2), курицы (3), и стандартной закваски

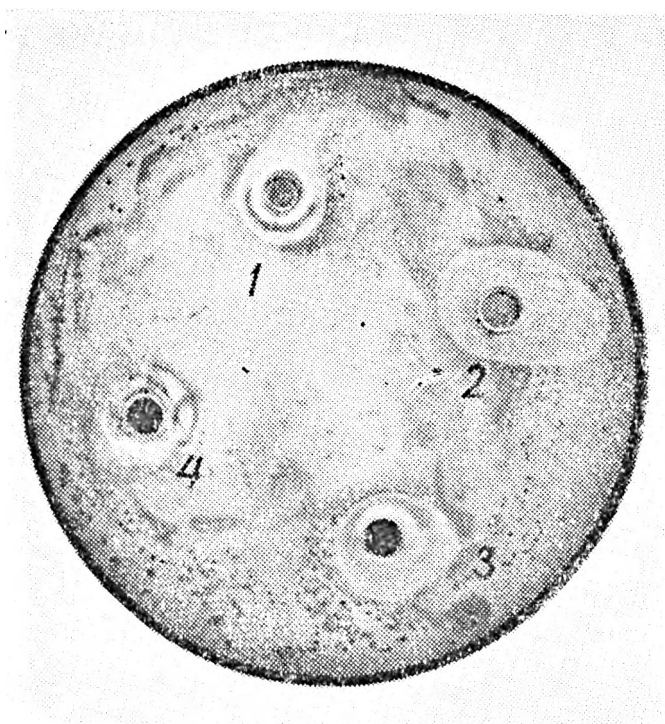


Рис. 2. Метод цилиндриков. После пастеризации, действие на *Bact. typhi suis* ацидофильных бактерий, выделенных от теленка 1, поросенка 2, курицы 3, стандарт 4.

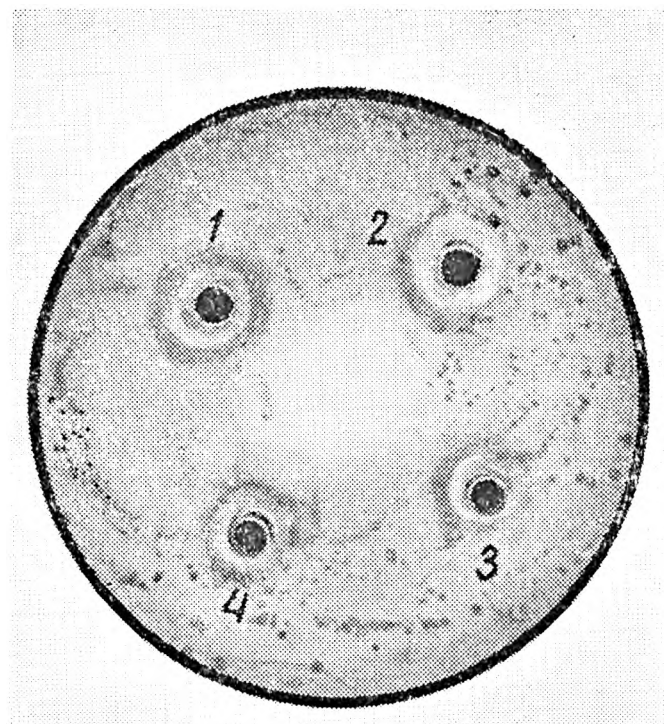


Рис 3 После нейтрализации, действие на *Bact. typhi suis* ацидофильных бактерий, выделенных от теленка 1, поросенка 2, курицы 3, стандарт 4.

на *Bact. typhi suis* после пастеризации ацидофильного молока. На рис. 3 показаны зоны действия этих же бактерий после нейтрализации.

Характерно то, что до нейтрализации молочной сыворотки при культивировании в термостате в течение 72 часов вторичный рост тест-бактерий не проявлялся, тогда как при нейтрализации через 20—24 часа отмечали вторичный рост.

При действии стерильного обрат и молочной сыворотки, полученной с использованием сычужного фермента, наблюдался интенсивный рост тест-микробов. Самосквашенный обрат (рН 3,5) действовал незначительно, а при нейтрализации его зоны антибиотической активности не было совсем.

Выводы

1. При изучении антагонизма ацидофильных бактерий установлено, что более выраженным антибиотическим действием на микробы из семейства *coli typhus* обладают видово-специфические ацидофильные бактерии.

2. Изучая механизм действия ацидофильных бактерий, мы наблюдали, что после нейтрализации молочной сыворотки антибиотическая активность ее частично сохраняется. Следовательно, ацидофильные бактерии подавляют развитие тест-микробов не только за счет молочнокислого брожения, но главным образом определенными антибиотическими веществами, активность которых более выражена в кислой среде. При нейтрализации молочной сыворотки антибиотические вещества в ней действуют непродолжительно. Однако можно предположить, что в кишечнике животных, где ацидофильные бактерии находятся в естественных условиях, антибиотические вещества действуют более продолжительно.

3. Антибиотическая активность ацидофильных культур после пастеризации снижается незначительно, что указывает на термостабильность антибиотических веществ.

4. На основании проведенных исследований считаем возможным рекомендовать для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных приготовление ацидофильного молока и ацидофильно-бульонной культуры (АБК) из видово-специфических местных штаммов ацидофильных бактерий, обладающих активным антагонистическим действием на соответствующих микробов из семейства *coli typhus*.