

с формированием гранулем. При микроскопическом исследовании печени опытных цыплят отмечали умеренный серозный отек. Единичные гепатоциты находились в состоянии жировой инфильтрации. Других существенных структурных нарушений установлено не было.

Таким образом, установлено, что применение иммуностимулирующего препарата из пчелиной перги "Апистимулин-А" предупреждает развитие у птиц токсической дистрофии печени, которая проявляется мелко- и крупнокапельной жировой дистрофией гепатоцитов, некрозом и лизисом их, дискомплексацией балочного строения, диффузно-гнездной инфильтрацией стромы и паренхимы органа лимфоидными клетками, макрофагами и незрелыми клетками гранулоцитарного ряда.

УДК 631.227:636.087.8

Гласкович М. А. – к. с.-х. н., доц., докторант, Соляник Т. В. – к. с.-х. н., доц., Гласкович С. А. – асп., Воронович Ю. В. – асп., Папсуева М. И. – асп., Юркевич В. В. – асп. УО "Белорусская ГСХА", г. Горки, Республика Беларусь

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ ПТИЧНИКА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

В объеме птицеводческих зданий в течение полного цикла выращивания птицы, необходимо совершенствование систем обеспечения микроклимата и оборудования, а также использование энергосберегающих и эффективных технологий и технических средств создания оптимальной среды обитания для птицы в условиях интенсивного ведения птицеводства. Поэтому зоогигиеническая оценка современных систем обеспечения и контроля микроклимата в птичниках является актуальной задачей зоогигиенической науки в сочетании с совокупностью научных знаний в области исследований ветеринарной микробиологии, эпизоотологии, имеющей определенное теоретическое и практическое значение.

Воздушная среда птичников является благоприятной средой для развития микроорганизмов. Они находятся на пылинках и вместе с ними удерживаются в воздухе, оседают на поверхность предметов и переносятся воздушными течениями на значительные расстояния. Источником микробного и пылевого загрязнения в воздухе служат высохший помет, корм, капельки слюны и слизи. Установлено, что бактериальная контаминация воздуха неразрывно связана с пылью, которая является для микробов не только носителем, но и питательной средой.

При концентрации микроорганизмов свыше 250 тыс/м³ воздуха, бактериальная обсемененность и пылевая загрязненность воздуха птицеводческих помещений в значительной степени зависит от эффективности вентиляции и кратности воздухообмена. Допускается бактериальная обсемененность воздуха помещений в пределах 180-220 тыс/м³. Экспериментально доказано, что при увеличении микробной обсемененности воздуха птичников

свыше гигиенических норм у птицы наступает микробный стресс, который, как правило, приводит к снижению иммунной реактивности и, как следствие – к снижению жизнеспособности, продуктивности и оплаты корма.

Концентрация пыли в воздухе помещений, косвенным путем загрязняющая воздух и являющаяся носителем микроорганизмов, должна сводиться к минимуму.

В ОАО «Птицефабрика Городок» Городокского района Витебской области, производственный участок «Хайсы» изучали бактериальная обсемененность и видовой состав микрофлоры птичника. Бакосеменность воздуха птичника изучали согласно рекомендациям «Санитарная гигиеническая оценка микроклимата животноводческих помещений» (В. А. Медведский). Исследования проб воздуха проводили по общепринятым бактериальным методикам: микроскопия мазков, посев на питательные среды, изучение культуральных, биохимических свойств и идентификация выделенных микроорганизмов по Берджи (9-е издание, 1994 год).

На первом этапе исследования перед проведением микроскопии выделенные культуры высевали на простые питательные среды, затем готовили мазки, высушивали их, фиксировали. После этого препараты окрашивали по Граму, Ольту и Михину (на наличие капсул).

Культивирование и культуральные свойства определяли на втором этапе исследования. Микроорганизмы хорошо росли на простых питательных средах: МПА, МПБ, рН 7,2-7,8 при температуре +36-37 °С.

Для получения изолированных колоний материал (1-2 капли смывов), нанесенный на поверхность среды (солевой кровяной МПА с 8-10 % поваренной соли и 5 % дефибринированной крови; кровяной МПА), втирали шпателем последовательно в 2-3 чашки так, чтобы он распределился равномерно по всей поверхности среды. Посевы выдерживали в термостате при температуре +37 °С. Применение солевого кровяного агара проводили с целью дифференциации стафилококков от других микроорганизмов, что основано на способности стафилококков выдерживать высокие концентрации NaCl (до 16 %).

Высокое содержание соли используют для задержки роста спорообразующих и кишечных бактерий, а присутствие молока активизирует образование пигмента. Помимо селективной среды (солевой кровяной агар) посеvy делали на МПБ и МПА. Изолированную колонию с солевого или кровяного агара пересекали в пробирки со скошенным МПА и в МПБ; выросшую чистую культуру идентифицировали. Из части колонии готовили мазки, окрашивали по Граму и Михину (на наличие капсулы) и микроскопировали.

Для культивирования энтеробактерий использовали агар Эндо, Левина, Плоскирева и висмут-сульфитный агар (ВСА). На второй день просматривали посеvy исследуемого материала с целью выявления характерных культуральных свойств исследуемых микроорганизмов.

На третьем этапе изучали ферментативные (биохимические) свойства микроорганизмов и проводили видовую идентификацию микроорганизмов рода *Staphylococcus* на основании изучения комплекса биологических

свойств выделенных чистых культур. Ферментативные свойства изучали на основании выраженности биохимической активности – по выделению сахаролитических и протеолитических ферментов, по расщеплению маннита (ферментация маннита свойственна патогенным видам), лактозы, сахарозы, глюкозы, фруктозы, мальтозы, ксилозы, глицерина с образованием кислоты без газа; по восстановлению нитратов в нитриты; по разложению крахмала, инулина, дульцита, салицина, раффинозы и образованию индола.

Патогенные свойства микроорганизмов определяли по реакции плазмокоагуляции (для рода *Staphylococcus*). Реакцию плазмокоагуляции ставили для выявления фермента коагулазы. Петлю суточной агаровой культуры микроорганизмов суспендировали в 0,5 мл цитратной кроличьей плазмы. Результаты реакции регистрировали через 1, 2, 4 и 18 часов инкубации проб в термостате при температуре 37 °С.

Лецитиназную активность выделенных стафилококков определяли на желточной среде. Для ее приготовления к расплавленному и охлажденному до 46 °С МПА стерильно добавляли 20 % желточной взвеси (желток куриного яйца в 200 мл физраствора). Для подтверждения патогенности выделенной культуры сальмонелл и кишечной палочки *E. coli* готовили смыв суточной агаровой культуры и вводили трем белым мышам массой 15–18 г в дозе 500 млн. микробных клеток внутривентально.

Гемолитическую активность определяли путем посева на кровяной агар с 5 % дифибринированной крови кролика. Чистую культуру, выросшую на скошенном МПА, пересекали на 5 %-ный кровяной агар в чашках Петри.

Серологическую идентификацию сальмонелл и кишечной палочки *E. coli* проводили путем постановки пластинчатой реакции агглютинации (РА) с О- и Н-монорецепторными сальмонеллезными и О-коли сыворотками.

При микроскопировании обнаруживали грамположительно окрашенные кокки (диаметр 0,5–1,5 мкм), располагающиеся небольшими гроздевидными скоплениями. Часть их содержалась в цитоплазме лейкоцитов. Часть микроорганизмов имела капсулы, а часть – не имела. Также обнаруживали полиморфные палочки с закругленными концами длиной 1–3 мкм, шириной 0,3–0,6 мкм, располагающиеся одиночно и реже попарно, спор не образующие, подвижных и неподвижных сероваров, грамотрепетельных, что свидетельствовало о выделении *E. coli*.

Выделенные микроорганизмы образовывали капсулы. По Ольту микробная клетка окрашивалась в красно-коричневый цвет, а капсула – в желтый. При окраске по Михину бактерии окрашивались в синий, а капсулы – в синево-белый цвет.

На второй день просматривали посеы исследуемого материала для выявления характерных особенностей исследуемых микроорганизмов. При этом на плотных питательных средах обнаруживали колонии микроорганизмов размером 1–4 мм. Форма колоний была округлая, слегка выпуклая, края ровные, поверхность влажная, глянцевая. Цвет колоний был эмалево-белый и золотистый.

Таким образом, эмалево-белый цвет колоний свидетельствует о выделении эпидермального стафилококка (*S. epidermidis*), а золотистый – золотистого стафилококка (*S. aureus*).

На солевом кровяном агаре вокруг колоний зона гемолиза отсутствовала.

При бакисследовании одновременно со стафилококками выделяли и кишечную палочку *E. coli*. Этот микроорганизм является факультативным анаэробом, хорошо растет при температуре +37-38 °С, рН 7,0-7,4 на обычных питательных средах – МПА, МПБ, среде Эндо и Левина.

На МПА через 24 часа появлялись сочные, круглые, с ровными краями и гладкой поверхностью (S-формы) серо-белого цвета колонии.

В МПБ наблюдалось интенсивное помутнение среды и наличие незначительного осадка, легко разбивающегося при встряхивании.

На среде Эндо *E. coli* образовывали колонии темно-вишневого цвета с металлическим блеском, диаметром 2-3 мм.

На среде Левина отмечены колонии кишечной палочки *E. coli* темно-фиолетового цвета.

На третьем этапе также изучали и проводили видовую идентификацию микроорганизма *E. coli*. Этот микроорганизм обладает высокой ферментативной активностью – ферментировал с образованием кислоты и газа глюкозу, лактозу, маннит; сахарозу и дульцит ферментировал не постоянно, не изменял адонит и инозит, образовывал индол, не образовывал H_2S , желатин не разжижал; на среде Симмонса рост его не наблюдался, давал положительную реакцию с метиловым красным (ярко-розового цвета), отрицательную реакцию Фогеса-Проскауэра (среда желтого цвета), мочевины не расщеплял.

При исследовании обнаружили хорошо выраженную биохимическую активность микроорганизмов рода *Staphylococcus*, так как они активно выделяли сахаролитические и протеолитические ферменты. Они расщепляли маннит, лактозу, сахарозу, глюкозу, фруктозу, мальтозу, ксилозу, глицерин с образованием кислоты без газа; восстанавливали нитраты в нитриты, не разлагали крахмал, инулин, дульцит, салицин, раффинозу, не образовали индол, выделяли аммиак и сероводород, продуцировали каталазу, уреазу, фосфатазу и аргиназу, разжижали желатин, свертывали кровяную сыворотку, свертывали и пептонизировали обычное и лакмусовое молоко; продуцировали сероводород и аммиак.

Появление на дне пробирки студнеобразного сгустка через 1, 2, 4 и 18 часов инкубации проб в термостате при температуре 37 °С свидетельствовало о наличии у изучаемого штамма фермента плазмокоагулазы. В наших исследованиях обнаруживали положительную реакцию плазмокоагуляции уже через 1 час в чистых культурах, полученных как из колоний эмалево-белого, так и золотистого цвета.

Таким образом, культуры стафилококков *S. epidermidis* и *S. aureus*, давшие положительную реакцию плазмокоагуляции, являются патогенными. На желточной среде вокруг колоний микроорганизмов, выделяющих лецитиназу, образуется зона помутнения с радужным венчиком по периферии (светящийся ореол). При исследовании обнаруживали положительную реакцию

у части колоній, имеющих золотистый цвет, у колоній эмалево-белого цвета реакция была отрицательной.

Таким образом, *S. aureus* является лецитиназоактивным, а *S. epidermidis* – лецитиназоотрицательным. При подтверждении патогенности выделенной кишечной палочки результат был положительный, так как в течение 5 суток погибли все три белые мыши.

Гемолитической активности у *S. epidermidis* не обнаружено, а *S. aureus* образовывал гемолиз.

Кишечная палочка выделяла гемотоксин, т. е. микроорганизмы были гемолитически активными с образованием β -гемолиза (вокруг колоний обнаруживали бесцветную прозрачную зону).

Из 140 проб патологического материала *E. coli* выделены в 6 пробах.

Параллельно с выделением стафилококков и кишечной палочки из воздуха птичника выделялись микроорганизмы рода *Salmonella*: *S. pullorum-gallinarum*, *S. enteritidis*, *S. anatum*, *S. typhimurium*.

Материал высевали на питательные среды МПА, МПБ, агар Эндо, висмут-сульфитный агар, Левина, Плоскирева. На средах Эндо, Левина, Плоскирева сальмонеллы росли в виде бесцветных или серовато-голубых колоний, на висмут-сульфитном агаре образовывали черные колонии.

В жидкой среде (МПБ) рост сальмонелл проявлялся равномерным помутнением среды, на МПА – гладкими бесцветными прозрачными или серо-голубоватыми колониями с ровными краями.

При засеве в набор дифференциально-диагностических питательных сред для определения биохимической активности микробов установлено, что сальмонеллы ферментировали глюкозу, маннит, росли на агаре Симмонса (усваивали цитратно-аммонийные соли), не сбразивали лактозу, сахарозу, не расщепляли мочевины, не гидролизировали (не разжижали) желатин, не образовывали индол.

Серологическую идентификацию сальмонелл проводили с монорецепторными сальмонеллезными О- и Н-сыворотками. Из 70 опытных проб патологического материала выделены микроорганизмы в 25 случаях (35,7 %), из 70 контрольных проб – в 31 случае (94,4 %). Типированы микроорганизмы рода *Salmonella* следующих видов: *S. typhimurium* (01, 04, 05, 012; Hi и HI, H2); *S. enteritidis* (01, 09, 012; Hg, Hm, H1, H7); *S. pullorum-gallinarum* (01, 09, 012).

В результате проведенных экспериментов при бактериологическом исследовании воздуха птичника, в котором содержалась птица опытных и контрольной групп, были выделены микроорганизмы: рода *Salmonella* (*S. pullorum-gallinarum*, *S. enteritidis*, *S. anatum*, *S. typhimurium*); рода *Escherichia* (*E. coli*); рода *Staphylococcus* (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus*); рода *Streptococcus* (*S. pneumoniae*); рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. megatherium*, *B. mycoides*); рода *Proteus* (*P. vulgaris*); рода *Pasteurella* (*P. multocida*); рода *Candida* (*C. albicans*); рода *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. flavus*).

Несмотря на выделение из воздуха вышеперечисленных микро-организмов, при введении в рацион цыплят биологически активной добавки “Вигозин” естественная резистентность организма птицы повысилась, а следовательно и улучшились экологические аспекты производства продукции птицеводства.