

*Студенты III курса зоотехнического факультета
В. ИСАЧЕНКОВ, Ф. ТИЩЕНКОВ*

О ВЫДЕЛЕНИИ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ АЦИДОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ И ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЕЕ СВОЙСТВ

*Руководители профессор Н. П. ТИХОМИРОВ,
ассистент Т. Г. КОЛЬЦОВА.*

Часто причиной болезней и падежа молодняка являются микробы. Из числа болезней, вызываемых микробами, одно из первых мест принадлежит кишечным заболеваниям. Микробы, развиваясь в кишечнике, по-разному влияют на организм. В толстом отделе кишечника наиболее благоприятные условия для развития микроорганизмов. Здесь, благодаря прекращению переваривающего действия ферментов, наличию щелочной среды и обилию питательного материала создаются «термостатные» условия для развития микрофлоры. В этих условиях получают преимущественное развитие бактерии гниения. Продукты их жизнедеятельности, ядовитые газы, индол, скатол, сероводород, фенол и другие, всасываясь кровью, отравляют молодой организм, вызывают изнуряющий понос и исхудание.

Кроме гнилостных бактерий в толстом отделе кишечника находят благоприятные условия развития возбудители паратифозной инфекции. Подавление жизнедеятельности гнилостных и патогенных микробов кишечника будет служить цели оздоровления животного организма. Подавление этих бактерий в терапевтических целях возможно путем вселения в кишечник безвредных для животного микробов — антагонистов, которые продуктами своей жизнедеятельности угнетали бы развитие гнилостных и патогенных бактерий. Идея бактериотерапии и профилактики кишечных и некоторых других заболеваний принадлежит И. И. Мечникову. В методе бактериотерапии, разработанной И. И. Мечниковым, оказался неудачным выбор микроорганизма — болгарской палочки. *B. Vulgaricus* оказалась неспособной акклиматизироваться в кишечнике в силу своей повышенной чувствительности к фенолу, индолу, сероводоро-

ду и другим газам, с наличием которых сопряжена жизнь микроорганизма в кишечнике. Это положение твердо установлено работами ряда исследователей Klotz, Schiller, Kuhn (по К. И. Кудзину, 1936) и другие экспериментально доказали неприживаемость *V. Vulgaricus* в кишечнике. Дальнейшие поиски подходящего микроорганизма привели к открытию в 1900 году микробиологом Моро ацидофильной палочки (*Bacillus acidophilus*), которая успешно заменила болгарскую. Обе палочки, хотя и близки друг к другу по своим культуральным свойствам, но значительно разнятся своим отношением к фенолу и индолу. В то время, как *V. acidophilus* может развиваться при концентрации фенола от 1 : 400 до 1 : 250, *V. Vulgaricus* погибает уже при концентрации фенола 1 : 400.

Существенна и важна та особенность ацидофильной палочки, что она является постоянной обитательницей кишечника большинства сельскохозяйственных животных и сохраняет способность акклиматизироваться после ее выделения оттуда и культивирования в условиях лаборатории на молоке. Болгарская палочка — обитательница молока и для нее чужды условия кишечника. Эти качественные и количественные различия между палочками и определяют преимущественные возможности *V. acidophilus* при акклиматизации в кишечнике.

Применение ацидофилина (молока или обрат, сквашенного чистой культурой ацидофильных бактерий) дает высокий эффект в лечении и профилактике кишечных расстройств молодняка сельскохозяйственных животных. Лечебные свойства ацидофилина в борьбе с паратифом поросят по данным ряда авторов превосходят некоторые фармакологические препараты. А. К. Найденский (1960) провел опыт лечения ацидофилином поросят, больных паратифом. Одна группа лечилась ацидофилином, другая сульфантролом. Лечение сульфантролом снизило падеж на 13% против контрольной группы. Применение ацидофилина сохранило 91,5% больных поросят. Скармливание ацидофилина повышает привесы молодняка. Весьма показателен в этом отношении опыт О. В. Войткевича (1938) на цыплятах, в котором опытные цыплята дали привес на 71% больше контрольных.

Механизм антагонизма *V. acidophilus* на вредных и патогенных бактериях кишечника состоит в следующем. Лактоза и некоторые другие сахара корма при вселении *V. acidophilus* в кишечник сбраживаются ею в молочную кислоту. Молочная кислота подкисляет щелочную среду содержимого кишечника. Сдвиг РН в кислую сторону бактерицидно действует на гнилостных сапрофитов и паратифозных сальмонелл, которые, как правило, требуют для своего развития щелочной среды.

О способности *V. acidophilus* изменять РН среды позволяют судить данные таблицы 1. Одновременно с прочими показателями таблицы приводим показатель объема толстой кишки 20-дневного поросенка, полагая при этом, что подобное сравнение позволит увидеть значительные предпосылки к изменению РН кишки при вселении в нее ацидофильных бактерий.

Таблица 1

Температура сбраживания	Сколько часов сбражива- лось молоко в пробирках	РН молока до сбражива- ния	РН после сбраживания	РН содержи- мого толстой кишки поросенка	Объем толстой кишки 20-дневного поросенка
45	26	6,95	4,6		
42	24	6,93	4,3	6,6	100 мл
42	23	6,96	4,4		

Молоко сквашивалось в пробирках выделенной нами культурой ацидофильных бактерий из кала поросят.

Антагонистическое действие *B. acidophilus* на паратифозные бактерии столь характерно, что стало для некоторых исследователей (А. И. Улендеев, 1954) одним из пунктов культуральной дифференцировки ацидофильных бактерий и им подобных.

В настоящее время применяются для приготовления ацидофилина, ацидофильные культуры, обычно выделенные от детей или телят. Мы ставили перед собой задачу получить чистую культуру ацидофильных бактерий от поросят. В своей работе исходили из предпосылки, что для каждого вида животных нужны специфические культуры, выделенные от животных того же вида. Мы предполагали, что выделенная из организма поросят культура должна явиться основой для приготовления ацидофильных препаратов для этих животных.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИСПЫТАНИЕ КУЛЬТУРЫ

Пробирки со стерильным молоком засеивались фекалиями от двух групп поросят-сосунов: первая группа — здоровая, вторая — поносящая. Молоко выдерживалось в термостате при температуре 42° до свертывания. Из пробирок, в которых молоко успело свернуться не позднее как через 48 часов (а бактериоскопия показала наличие ацидофильной палочки), делались пересевы снова на молоко. Через три пассажа в молоке производился пересев на обрат, разбавленный дистиллированной водой. Пробирки с обратом выдерживались в термостате 24 часа при температуре 42°. Обрат в количестве 1—1,5 мл вносился в пробирки с расплавленным агаром (температура агара 50—55°), в который добавлялась лактоза. После быстрого встряхивания пробирки ставили в термостат и бактерии инкубировались в течение 3-х суток при температуре 42°. На третий день в столбике агара были видны хорошо развитые тонковолокнистые, похожие на кусочки ваты, колонии ацидофильных бактерий.

Эти колонии переносились в молоко и выдерживались при температуре 42° в течение 20—24 часов. Штаммы, которые не свернули к этому времени молоко или свернувшие молоко не гомогенно со слоями сыворотки, выбраковывались.

В процессе выделения чистой культуры из фекалий поросят, больных паратифом и здоровых нами было подмечено весьма интересное явление.

Культура, полученная из фекалий больных поросят, оказалась пониженной жизнеспособности. Молоко свертывалось ею медленно и было творожистой рыхлой консистенции. Разница в скоростях появления первых признаков свертывания молока культурами от здоровых и больных поросят показана в таблице 2.

Таблица 2

Здоровые						Больные						
Номера пробирок					Среднее	Номера пробирок					среднее	Разница
1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		
17 час.	18 час.	22 час.	16 час.	18 час.	17 час.	19 час.	25 час.	23 час.	24 час.	21 час.	22 час.	5 час.

Эти данные говорят о том, что сам факт наличия высокодеятельных ацидофильных бактерий в кишечнике является в какой то мере показателем здоровья поросят.

После получения чистой культуры *B. acidophilus* свиного типа были проведены опыты по выявлению ее лечебных свойств.

Пять молодых морских свинок (3 опытные и 2 контрольные) содержались перед опытом на однообразной диете, состоящей из недоброкачественного овса с редкой дачей корнеплодов. Такое кормление скоро вызвало понос, фекальные массы стали жидкой консистенции со зловонным запахом.

Ежедневное скармливание опытным свинкам девяти миллилитров ацидофилина, приготовленного на основе полученной нами культуры, уже на 4-й день привело в норму состояние кишечника свинок. Ацидофилин, сквашенный культурой от больных поросят, действовал менее успешно.

Полученная нами культура *B. acidophilus* была использована для приготовления в нашей лаборатории ацидофильно-бульонной культуры (АБК).

Хозяйственное применение АБК на поросятах учхоза «Удрайское» показало эффективность ацидофильно-бульонной культуры свиного типа.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *B. ACIDOPHILUS* НА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ ИЗ РОСТКОВ ЗЛАКОВ

При изучении литературы нам не удалось найти опубликованного материала по данному вопросу. Мысль культивирования *B. acidophilus* на питательной среде из зеленых ростков злаков оправдана тем, что здесь могут быть наиболее удачно сочетаться полезные свойства бактерий и растений.

Опыт проводился по следующей методике: зерна злаков (овса, ячменя, ржи, кукурузы, пшеницы) проращивались до выгонки

ростков длиной 1,5—2 см, зеленые ростки обрезались вместе с верхушками зерен и многократно промывались кипяченой водой $t 50^{\circ}\text{C}$, тщательно перетирались до кашицеобразной массы и заливались физиологическим раствором 1:40, затем процеживались и трехкратно пастеризовались.

Молочная сыворотка, засеянная за 24 часа ацидофильными бактериями, смешивалась в равных количествах с полученным фильтратом. Ацидофильные бактерии, культивируемые в такой питательной среде, выдерживались в термостате при $t 39^{\circ}$ трое суток. В столбике жидкости на третий день были видны тонкие нити, дающие осадок, а при легком встряхивании уходящие во взвесь. Лучший рост получился на ростках пшеницы и кукурузы.

Общеизвестно, что в зеленом ростке имеется целая гамма витаминов: каротин, рибофлавин, пантотен, витамин В-12 и др. Кроме витаминов в ростке богато представлены различные ферменты и катализаторы. Наконец, молодой росток имеет в себе регуляторы своего роста, так называемые биостимуляторы. Вот почему витаминизированные ацидофильные препараты должны дать хорошие результаты в оздоровлении молодняка. Проводится работа по изучению влияния витаминизированных ацидофильных бактерий на рост и развитие животных.

ВЫВОДЫ

1. Из кишечника поросят можно выделить *B. acidophilus*.
2. Для приготовления ацидофильных лечебных препаратов необходимо выбирать штамм, энергично изменяющий микрофлору кишечника, быстро свертывающий молоко.
3. Культура ацидофильных бактерий, выделенная от больных животных, имеет ослабленные свойства, что указывает на ее особую роль среди микроорганизмов кишечника.
4. Для выделения чистой культуры необходимо брать фекалий от здоровых поросят.
5. Чистая культуры *B. acidophilus* дает хороший рост на питательной среде из молодых ростков кукурузы и пшеницы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кудзин К. И. — Ацидофильные напитки, Микробиология, I. V, вып. 4, 1936.
 2. Войткевич О. В. — О применении ацидофильной палочки для борьбы с заболеваниями цыплят. Микробиология, т. 7, вып. 1, 1938.
 3. Улендеев А. И. — О количестве ацидофильных бактерий в кишечнике лошади. Микробиология, т. т. XXIII, 4, 1954.
 4. Леонович В. В. — Взаимоотношение представителей облигатной микрофлоры кишечника сельхозживотных Тр. Всес. Н. И. ин-та с, х. микробиологии, XII вып. 2., 1953.
 5. Найденский Л. К. — Применение ацидофилина при паратифе поросят. Ветеринария, 2, 1960.
-