

Скрининг перспективных пробиотических штаммов бактерий *Vacillus spp.*, выделенных из микробиоты здоровых кур различных типов содержания

Головин С.Н., Празднова Е.В., Мазанко М.С.

Докладчик: Головин С.Н.



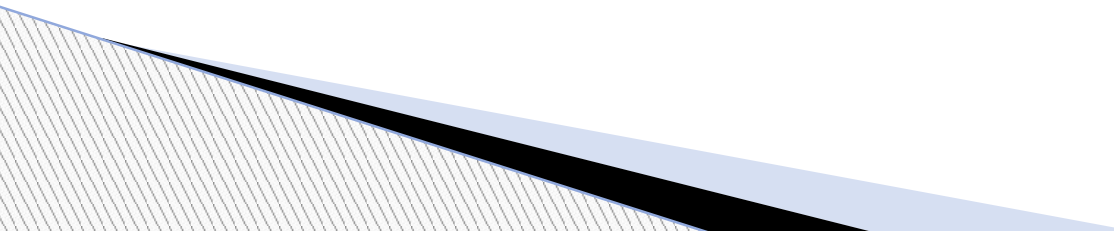
Пробиотики – биологически активные пищевые добавки, содержащие живые микроорганизмы, обладающие полезными для организма свойствами

Микробиота – совокупность всех микроорганизмов, населяющих тот или иной эпителий организма хозяина

Цель работы

Поиск перспективных пробиотических штаммов *Bacillus spp.*

Задачи

- Выделение потенциальных пробиотических бацилл из микробиоты птиц;
 - Определение свойств выделенных штаммов и оценка их потенциальной пробиотической активности;
 - Формирование пула перспективных пробиотических штаммов бацилл.
- 

Места отбора проб

- ? ОАО «Птицефабрика Белокалитвинская», п.Сосны Белокалитвинского р-на РО (БК)
- ? ЗАО «Птицефабрика Гуляй-Борисовская», х.Гуляй-Борисовка Черноградского р-на РО (ГБ)
- ? ООО «Шахтинская инкубаторно-птицеводческая станция», г.Шахты, РО
- ? Птицефабрика «Донецкий бройлер» (ИП Строителев О.Н.), г.Донецк, РО
- ? Учхоз ДГТУ, РО
- ? Частное подсобное хозяйство, п.Персиановский Октябрьского р-на РО (П)
- ? Частное подсобное хозяйство, с.Раздольное, Краснодарский край (Раз)
- ? Частное подсобное хозяйство, г.Ростов-на-Дону (РнД)

Исследованные птицы

- Несушки клеточного содержания, кросс Хайсекс Браун, корм: стандартная кормосмесь;
- Несушки клеточного содержания, кросс Хайсекс Браун, корм: стандартная кормосмесь;
- Бройлеры клеточного содержания, кросс Кобб, корм: полнорационнный комбикорм;
- Бройлеры напольного содержания, кросс Кобб, корм: полнорационнный комбикорм;
- Несушки свободновыгульного содержания, кросс Хайсекс Браун, корм: комбикорм ПК-1-2;
- Несушки свободновыгульного содержания, кросс Хайсекс Браун, корм: комбикорм «Мегамикс» с добавками в виде овощей до 10% рациона;
- Несушки свободновыгульного содержания, порода полосато-пестрый Леггорн,

Отбор проб

Для исследования от 5-6 здоровых кур в стерильные пластиковые контейнеры отбирался свежий помёт в количестве 30-40 грамм. Пробы охлаждались до температуры +4°C и в течение суток доставлялись в лабораторию.

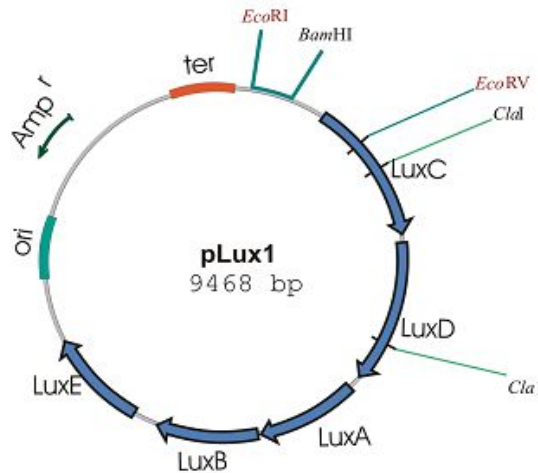
Этапы бактериологического исследования

- Каждая проба тщательно стерильно перемешивалась и помещалась в холодильник на 48 ч при +4°С для образования спор.
- Для выделения бактерий рода *Bacillus spp.* навески после инкубации разводили физиологическим раствором из расчёта 1:10 и прогревали на водяной бане при 93-95°С в течение 3 минут для удаления вегетативных форм бацилл.
- После охлаждения взвеси делали ряд последовательных разведений и высевали поверхностно на МПА.
- Посевы инкубировали 24 ч при температуре 42°С, после чего проводили учёт.

Метод скрининга на протекторную активность: биосенсорный тест

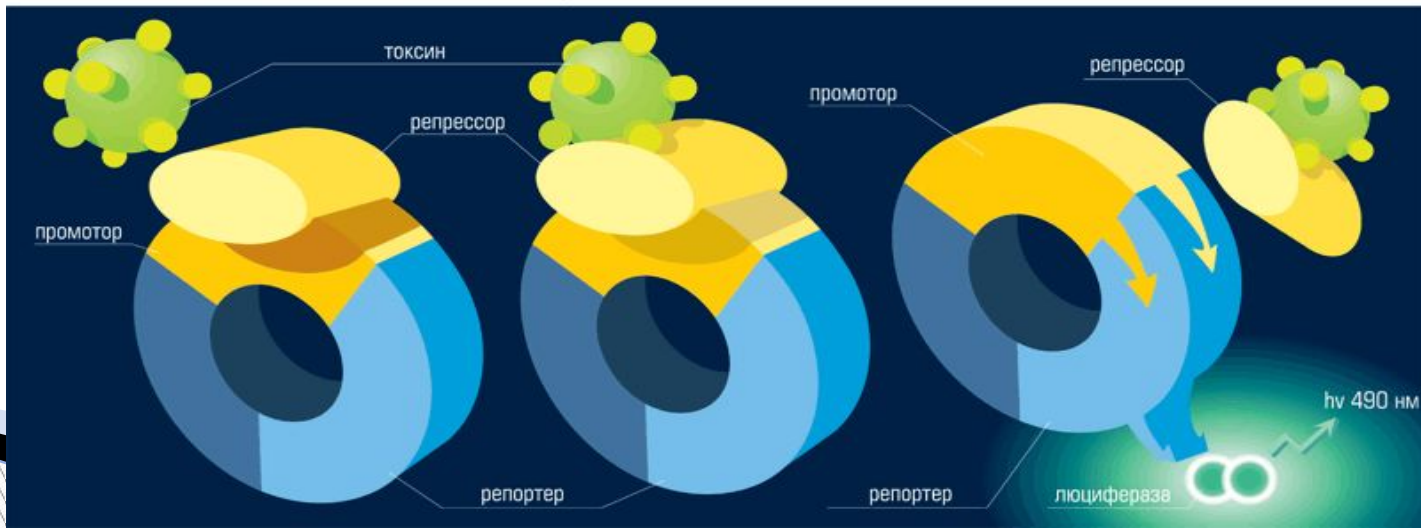
Рекомбинантные штаммы *E. coli*:

- MG1655 pRecA-lux - реагирует на разрывы ДНК (индикатор генотоксичности);
- MG1655 pKatG-lux – реагирует на внутриклеточную генерацию перекиси водорода.

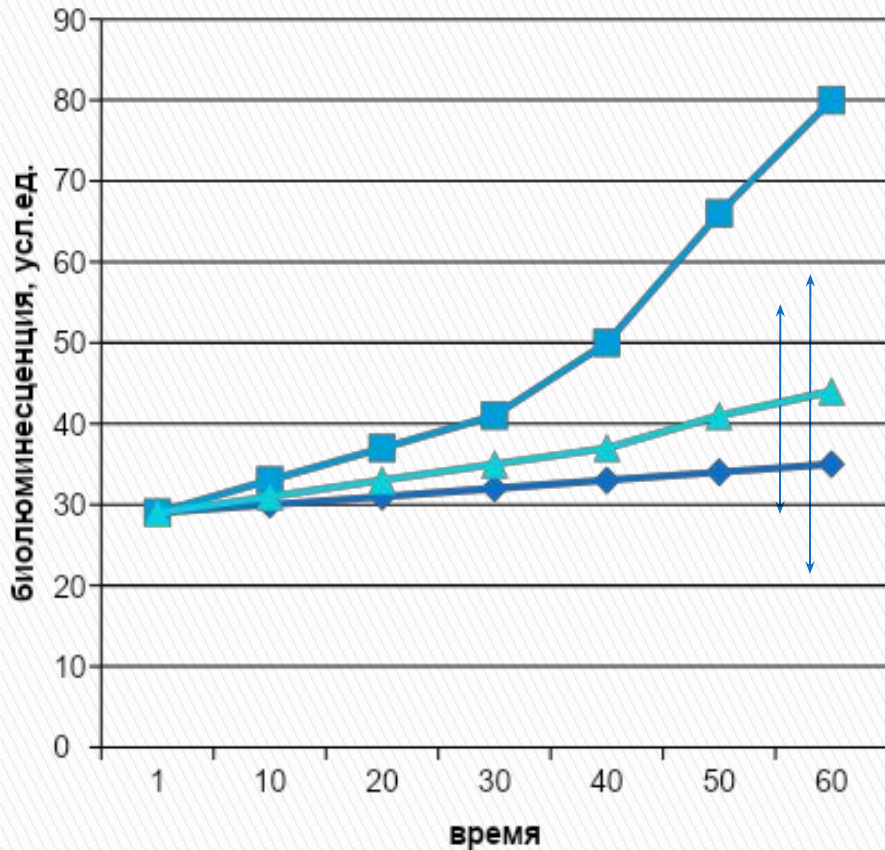


- | | |
|------------------------|---|
| 1) P _{grpE} | HeatShock - промотор, цитоплазматические белки |
| 2) P _{rpoE} | HeatShock - промотор, периплазматические белки |
| 3) P _{recA} | SOS - промотор |
| 4) P _{katG} | Промотор окислительного стресса от перекиси водорода |
| 5) P _{soxS} | Промотор окислительного стресса от супероксид-аниона радикала |
| 6) P _{fabA} | Промотор, чувствительный к нарушениям мембраны |
| 7) P _{arsR} | ARS - промотор |
| 8) P _{merR} | MER - промотор |
| 9) P _{lac} | Конститутивный промотор |

Токсин заявляет о себе свечением биосенсора



Принцип теста



◆ контроль
 ■ +индуктор
 ▲ +индуктор+протектор

Индукция

$$I^S = \frac{L_e}{L_k} - 1$$

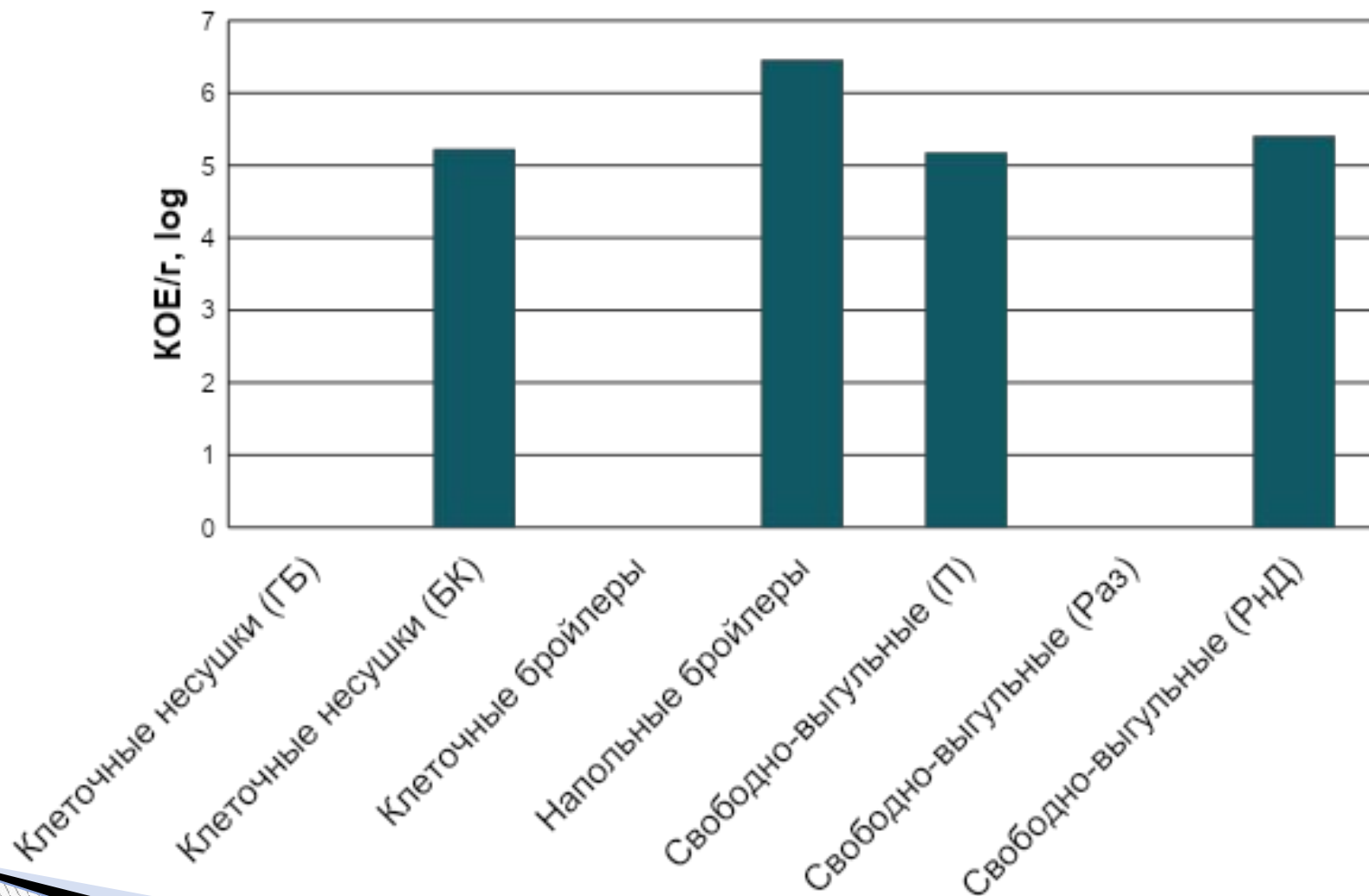
L_k – свечение в контроле
 L_e – свечение в опыте

Протекторная активность

$$A = \left(1 - \frac{I_a}{I_p}\right) 100\%$$

I_a - индукция
 I_p - индукция в присутствии протектора

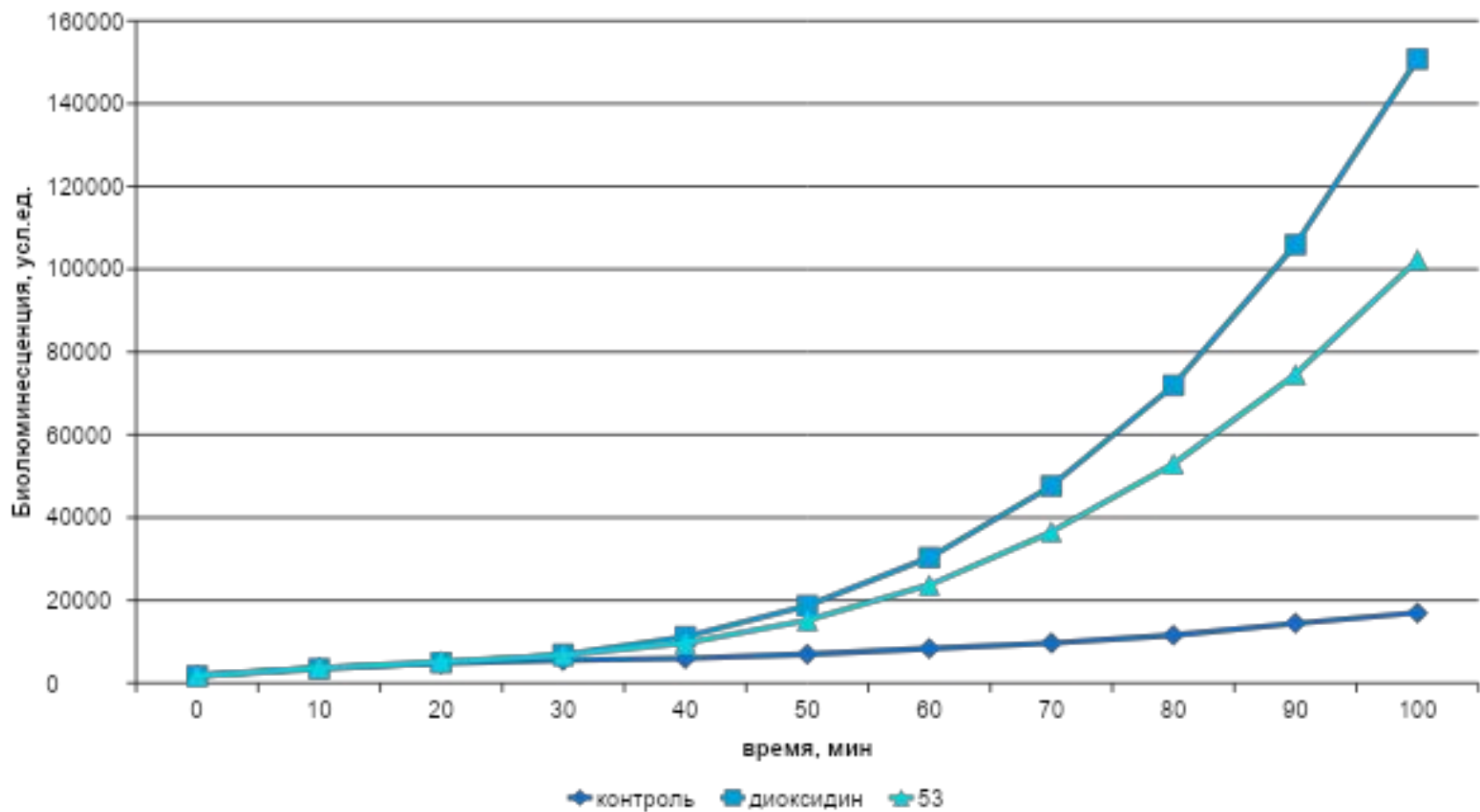
Количество бактерий *Vacillus spp.*, выделенных у кур, содержащихся в разных условиях, КОЕ/г, log:



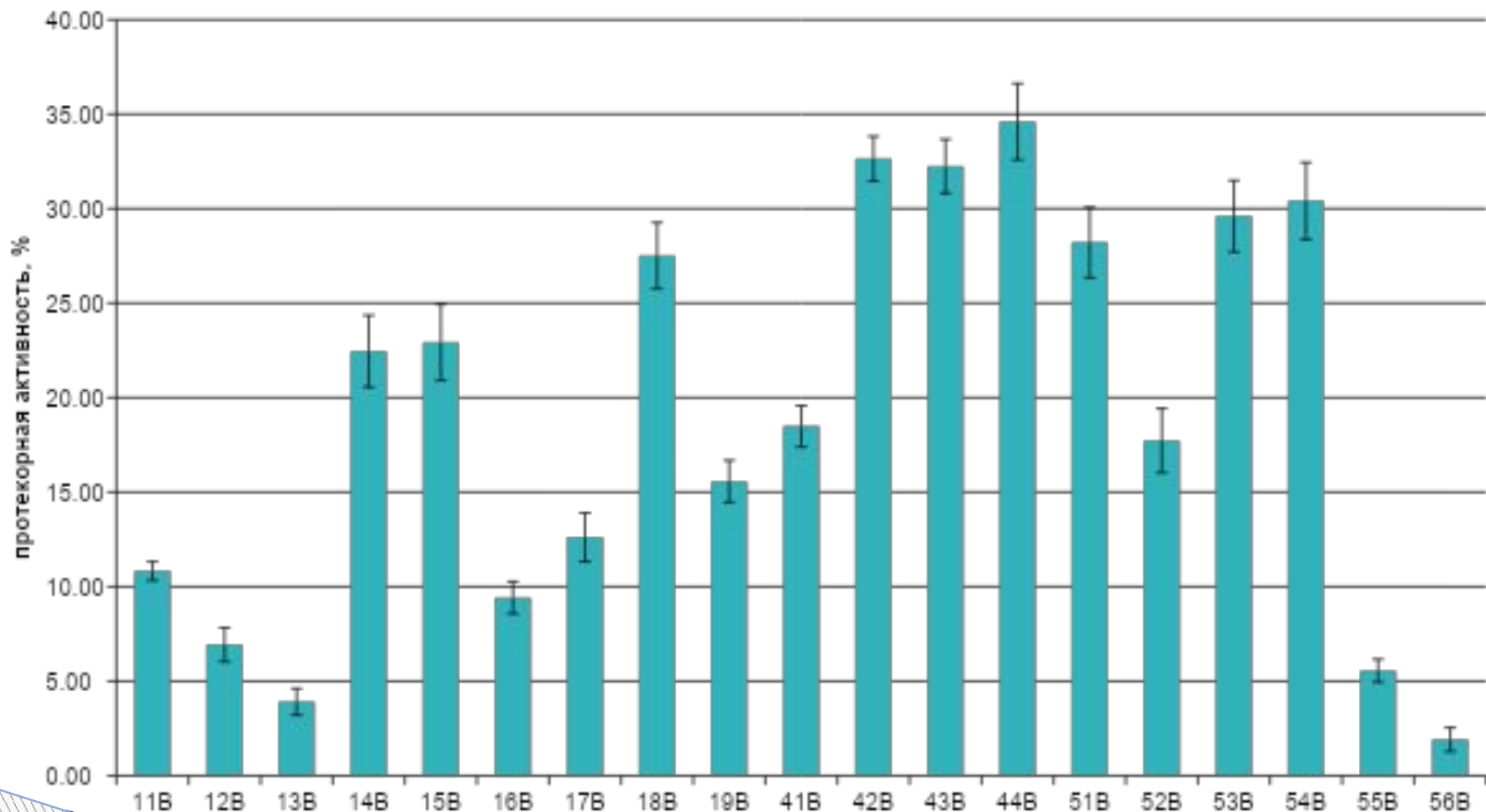
Отобранные штаммы *Bacillus spp.* и их ИСТОЧНИКИ:

| Штамм <i>Bacillus spp.</i> | Получен |
|------------------------------------|---|
| KB11, KB12, KB13, KB14, KB15 | свободновыгульное содержание (П), помёт |
| KB16, KB17, KB18, KB19 | напольное содержание, бройлеры, помёт |
| KB41, KB42, KB43, KB44 | клеточное содержание, несушки (ГБ), помёт |
| KB51, KB52, KB53, KB54, KB55, KB56 | свободновыгульное содержание (РнД), помёт |

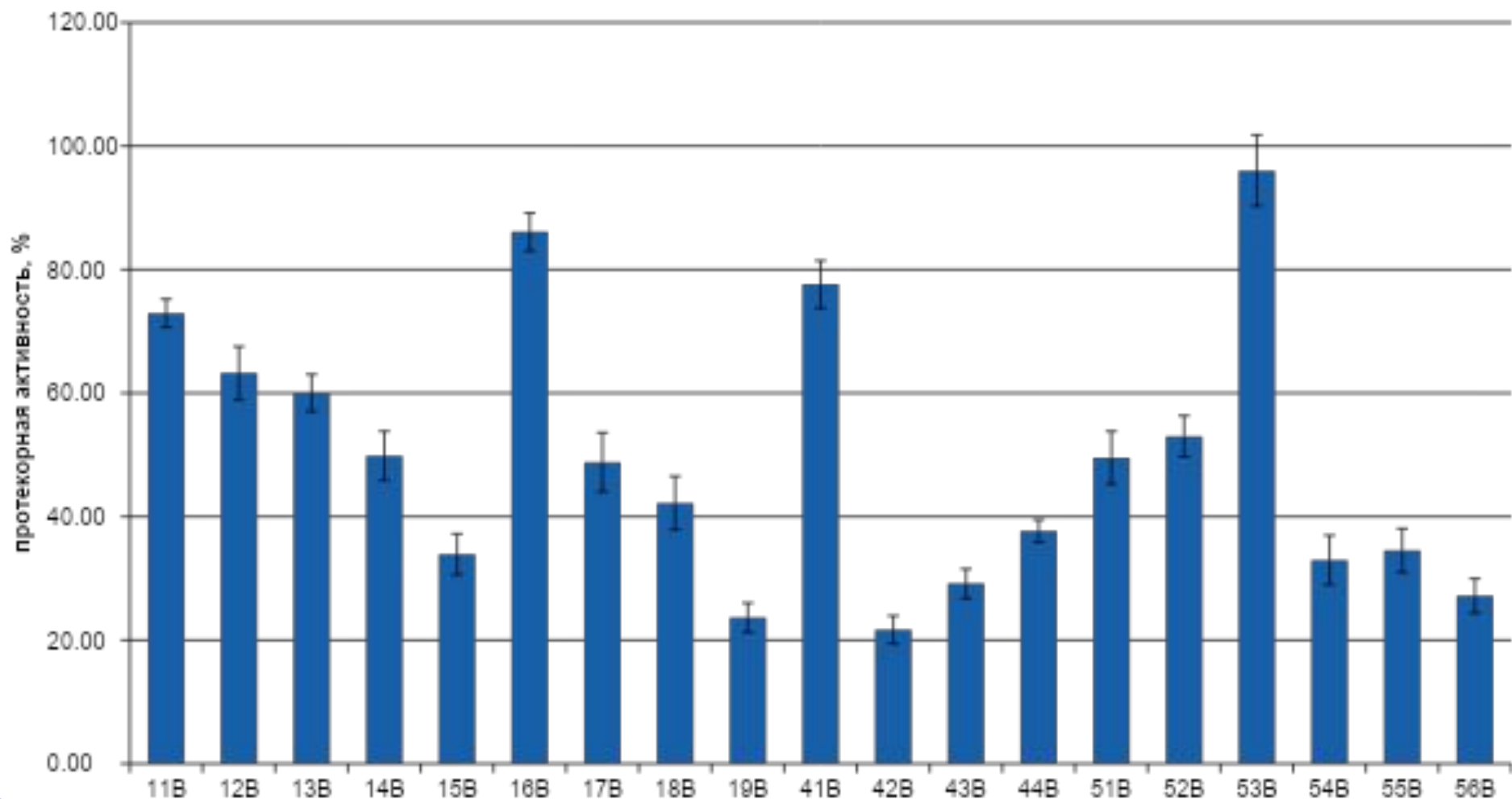
Протекторная активность *Vacillus spp.* КВ53



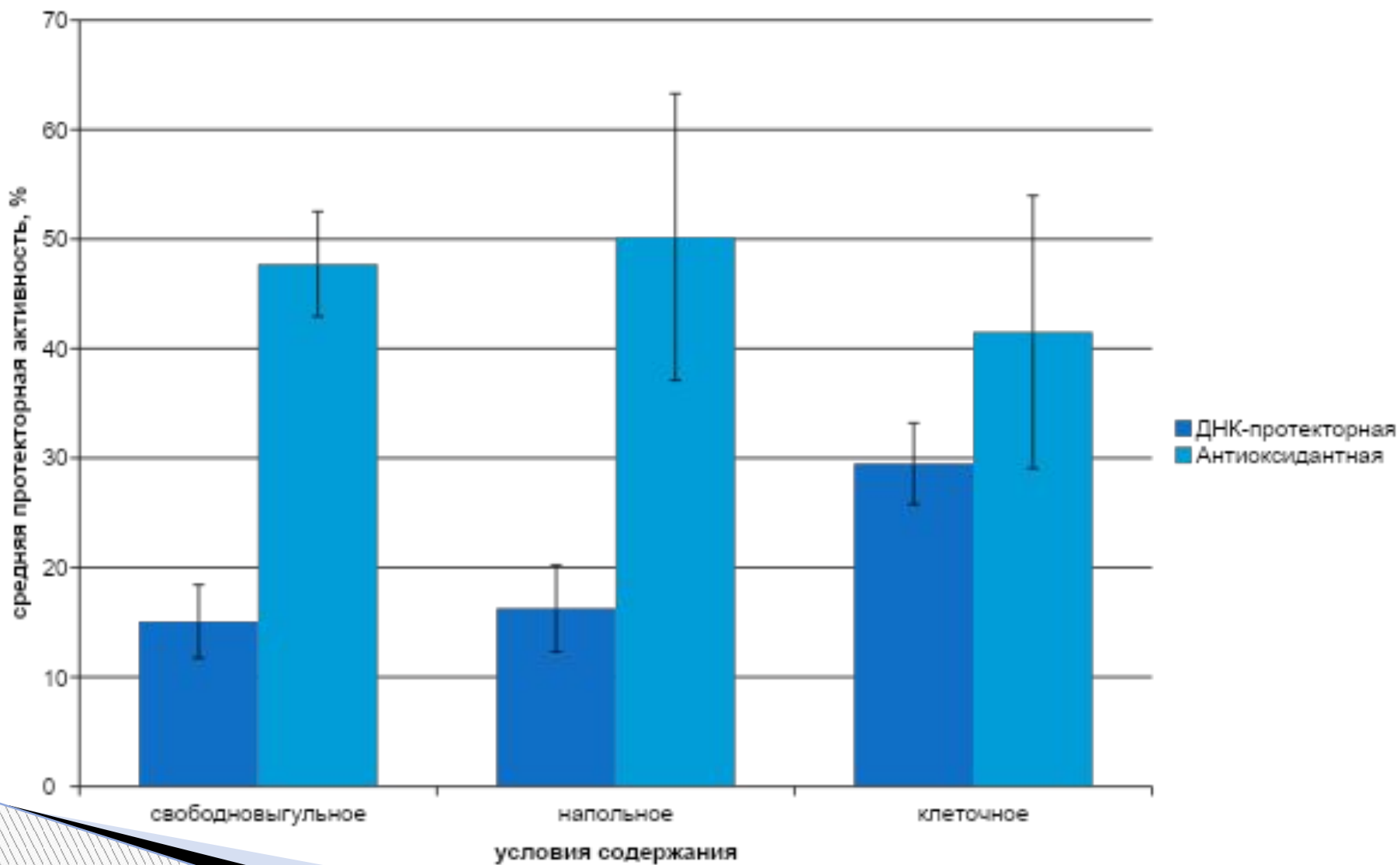
ДНК-протекторная активность



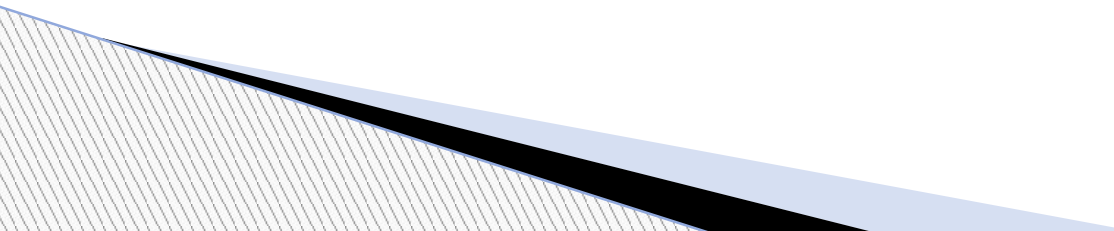
Антиоксидантная активность



Активность штаммов *Bacillus spp.* из микробиоты кур разных условий содержания



Выводы

- **Отобран ряд перспективных штаммов, обладающих антиоксидантной и ДНК-протекторной активностями, которые можно использовать для создания пробиотических биопрепаратов;**
 - **В микробиоте кур клеточного содержания присутствует больше бактерий-продуцентов антимуtagenных соединений.**
- 

Спасибо за внимание!

