

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина»
[ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И. Скрябина]

На правах рукописи

ВАСИЛЕВИЧ Сергей Федорович

**АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИКА-
ЭНТЕРОСОРБЕНТА СОРБОЛИН И ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В СКОТОВОДСТВЕ**

06.02.02. - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Грязнева Т.Н.

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ...	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Состав пробиотических препаратов, применяемых в скотоводстве.....	13
1.2. Антимикробное действие пробиотиков-энтеросорбентов на основе диоксида кремния	21
1.3. Эффективность применения в качестве энтеросорбентов природных цеолитов Хотимского и Хотынецкого месторождений.....	27
1.4. Механизмы лечебно-профилактического действия пробиотиков-энтеросорбентов, используемых при различных патологиях крупного рогатого скота.....	33
1.5. Заключение по обзору литературы.....	44
ГЛАВА 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	46
2.1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	46
2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	53
2.2.1. Определение антимикробной активности компонентов пробиотика - энтеросорбента Сорболин, изучение их химического состава, физико-химических и биологических свойств.....	53
2.2.1.1. Результаты изучения свойств Хотимского трепела.....	53
2.2.1.2. Характеристика культур штаммов <i>Bacillus subtilis</i> ВКПМ 10172 и <i>Bacillus licheniformis</i> ВКПМ 10135.....	67
2.2.1.3. Определение микробной обсемененности лактозы – наполнителя Сорболина.....	72
2.2.2. Изучение биологических свойств Сорболина.....	73
2.2.3. Разработка методов контроля качества Сорболина.....	76
2.2.4. Совершенствование метода определения количества бактерий рода <i>Bacillus</i> в пробиотике-энтеросорбенте Сорболин.....	79

2.2.5. Определение антимикробной активности Сорболина in vitro в отношении патогенных бактерий, грибов и простейших, вызывающих желудочно-кишечные болезни у телят.....	84
2.2.6. Определение острой и хронической токсичности Сорболина.....	91
2.2.7. Определение эффективной дозы Сорболина при желудочно-кишечных болезнях телят.....	107
2.2.8. Эффективность применения Сорболина при сальмонеллезе, микотоксикозе и эймериозе крупного рогатого скота.....	111
2.2.9. Определение экономической эффективности применения Сорболина при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят, в сравнительном аспекте.....	115
ГЛАВА 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ...	120
ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	127
4.1. Выводы.....	127
4.2. Практическое использование полученных научных результатов.....	128
4.3. Рекомендации по использованию научных результатов.....	130
ГЛАВА 5. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	132
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	151

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЖКТ	-	желудочно-кишечный тракт;
ЖКБ	-	желудочно-кишечные болезни;
МПА	-	мясо-пептонный агар;
МПБ	-	мясо-пептонный бульон;
ОКИ/ ОКЗ	-	острые кишечные инфекции/острые кишечные заболевания;
ПМФ	-	посторонняя микрофлора;
ПС	-	питательная среда;
ПЯ нейтрофилы	-	палочкоядерные нейтрофилы;
СЯ нейтрофилы	-	сегментоядерные нейтрофилы;
ЦСД	-	цеолито-сывороточная добавка;
ФГБОУ ВО	-	Федеральное государственное бюджетное образователь-
МГАВМиБ –		ное учреждение высшего образования «Московская гос-
МВА имени		ударственная академия ветеринарной медицины и био-
К.И. Скрябина		технологии - МВА имени К.И. Скрябина»

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы.

Проблема желудочно-кишечных болезней крупного рогатого скота, вызываемых бактериями, грибами, микотоксинами и кокцидиями до сих пор не решена, несмотря на большое разнообразие антибиотиков, пробиотиков, энтеросорбентов и кокцидиостатиков, представленных на рынке ветеринарных препаратов [22].

По данным Панина А.Н., Малик Н.И. [54]; Грязневой Т.Н. [21-24]; Голушко В.М, Козинец С.А. [40] и др., желудочно-кишечные болезни телят и коров дойного стада приносят огромный ущерб скотоводству, т.к. антибиотики и кокцидиостатики оказываются недостаточно эффективны, а диагностика кишечных инфекций и микотоксикозов затруднена [48].

По данным Россельхознадзора, в скотоводческих хозяйствах падеж телят от бактериальной и грибной инфекции может достигать 30%. У новорожденных коров кишечные инфекции вызывают перитониты, маститы и эндометриты.

По сообщениям Иванова А.В. с соавт. [34], в зимне-весенний период у крупного рогатого скота повсеместно наблюдаются микотоксикозы, которые провоцируют рождение слабого или нежизнеспособного потомства.

В последние годы у телят все чаще стали диагностировать эймериоз, а кокцидионосительство у коров и нетелей в различных климатических зонах РФ достигает 30 - 50% [23].

Поэтому, разработка и внедрение в ветеринарную практику новых универсальных препаратов против желудочно-кишечных болезней крупного рогатого скота, обладающих широким спектром антимикробного действия в отношении бактерий и грибов, являющихся эффективными энтеросорбентами микотоксинов и активно подавляющими рост и размножение кокцидий, является актуальной задачей для экономики страны.

Степень разработанности темы.

Широкое использование в медицине и ветеринарии пробиотических препаратов на основе бацилл для профилактики желудочно-кишечных болезней и в качестве альтернативы антибиотикам, подтвердило их высокую эффективность и перспективность [1, 8, 10, 24, 52, 54, 60, 76].

Наиболее перспективными видами бацилл в составе пробиотиков являются *B.subtilis* и *B.licheniformis* - продуценты ферментов и бактериоцинов. На их основе созданы многие препараты против кишечных инфекций и дисбактериозов – Ветом, Олин, Биоплюс, Биоспорин, Бактисубтил, Субалин и др. [23].

Доказана высокая эффективность при кишечных инфекциях и микотоксикозах энтеросорбентов на основе диоксида кремния, природных цеолитов, активированного угля и др. Такие сорбирующие препараты, как Энтеросгель, Полисорб МП, Белая глина, Каопектат, Смекта, Неосмектин, Белый уголь и др. широко используются при микотоксикозах и токсикоинфекциях как людей, так и животных [7, 15, 27, 29, 37, 41, 46, 55, 64, 65, 77].

Среди кокцидиостатиков наиболее часто применяют Стопкокцид, Соликоккс, Кокцидиовит, Байкоккс, Торукоккс.

Однако все эти препараты имеют узконаправленное действие в отношении определенных возбудителей и их токсинов.

Тем не менее, желудочно-кишечные болезни крупного рогатого скота, как правило, развиваются на фоне смешанных инфекций, паразитозов и отравления токсинами грибов [51, 61].

Поэтому, многие ученые в РФ и за рубежом работают над созданием лечебно-профилактических препаратов разностороннего действия, применение которых способствовало бы освобождению организма от бактерий, грибов, токсинов и паразитов и было бы доступно широкому кругу потребителей.

Цель исследований: определить антимикробную активность пробиотика-энтеросорбента Сорболин и его компонентов и оценить эффективность применения препарата при желудочно-кишечных болезнях и микотоксико-

зах крупного рогатого скота.

Для решения были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить антимикробное действие, физико-химические и биологические свойства компонентов пробиотика - энтеросорбента Сорболин.
2. Усовершенствовать метод определения количества пробиотических штаммов бактерий рода *Bacillus* в пробиотике-энтеросорбенте Сорболин.
3. Определить антимикробную активность Сорболина *in vitro* в отношении патогенных бактерий, грибов и простейших, вызывающих желудочно-кишечные болезни и микотоксикозы у телят.
4. Изучить биологические свойства Сорболина и разработать методы контроля качества препарата.
5. Изучить острую и хроническую токсичность Сорболина.
6. Определить эффективную дозу Сорболина при желудочно-кишечных болезнях телят.
7. Определить эффективность применения Сорболина при сальмонеллезе, микотоксикозе и эймериозе крупного рогатого скота.
8. Определить в сравнительном аспекте экономический эффект применения Сорболина при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят.

Научная новизна.

Впервые определена антимикробная активность нового отечественного пробиотика-энтеросорбента Сорболин на основе спорообразующих штаммов бацилл *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135, полиминеральной породы Трепела из месторождения «Стальное» Хотимского района Могилевской области (Республика Беларусь) и лактозы, предназначенного для профилактики желудочно-кишечных болезней крупного рогатого скота, вызванных бактериями, микотоксинами и кокцидиями.

Доказано, что Сорболин не обладает острой и хронической токсичностью для животных и может являться аналогом антибиотиков широкого спектра действия.

Сорболин имеет уникальные биологические свойства, выгодно отличающие его от антибиотиков, пробиотиков и энтеросорбентов: подавление жизнедеятельности патогенных и условно-патогенных бактерий, в т.ч. эшерихий, сальмонелл, кандид и стафилококков, а также возбудителей эймериоза телят; стимуляция размножения лакто - и бифидобактерий; адсорбция и выведение из организма животных микотоксинов, обеспечение организма микро- и макроэлементами.

Определена высокая [90%] профилактическая эффективность Сорболина и его антимикробная активность при сальмонеллезе, микотоксикозах и эймериозе крупного рогатого скота. Сохранность больных животных, которых лечили Сорболином, составила 100%.

Усовершенствован метод десятикратных разведений бактериальных суспензий для определения в Сорболине количества бацилл-компонентов, позволяющий учитывать до 99,5% жизнеспособных бацилл в единице объема препарата при проведении контроля его качества.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Доказана высокая антимикробная активность и эффективность пробиотика-энтеросорбента Сорболин – универсального отечественного биопрепарата на основе антагонистически активных штаммов бацилл и природных ископаемых цеолитов и углеводов, обладающих антибактериальным, противогрибным и противококцидиозным действием, который может представлять альтернативу антибиотикам и кокцидиостатикам на рынке ветеринарных препаратов.

Для ветеринарной практики предложен экологически безопасный пробиотик-энтеросорбент Сорболин, предназначенный для профилактики сальмонеллеза, микотоксикоза и эймериоза у крупного рогатого скота.

Усовершенствованный метод определения количества бацилл-компонентов в Сорболине позволяет проводить контроль качества как пробиотиков, так и вакцинных препаратов на основе бактерий рода *Bacillus*. Метод утвержден 22.06.2015 г. (№ 10118/217) Секцией зоотехнии и

ветеринарии Отделения сельскохозяйственных наук РАН.

В опытах на телятах и коровах изучен механизм действия Сорболина при сальмонеллезе, микотоксикозе и эймериозе, дана оценка влияния препарата на микробиоценоз кишечника, гомеостаз организма крупного рогатого скота, показана высокая эффективность препарата, что подтверждено актами, утвержденными руководителями хозяйств Московской обл. (ООО «Правда», Истринского района), Тверской обл. (ОАО Агрофирма «Дмитрова гора», Конаковского района) и Краснодарского края (АО «Холдинговая компания – агрофирма «Россия» Тимашевского района).

Результаты исследований были использованы при разработке проекта нормативной документации на Сорболин – инструкция по применению, СТО, регламент производства препарата.

Разработаны и утверждены научно-исследовательским отделом ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина методические рекомендации «Экология патогенных бактерий и грибов», предназначенные для самостоятельной работы аспирантов по направлению подготовки 36.06.01 - Ветеринария и зоотехния.

Материалы работы используются в учебном процессе по дисциплине «Микробиология» в ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина.

Методология и методы исследований.

Объектами количественных и качественных клинических, гематологических, микробиологических исследований являлись лабораторные (белые крысы, белые мыши, морские свинки, кролики) и сельскохозяйственные животные (козы, телята, коровы). В качестве лабораторно-клинических методов применяли бактериологический и микологический методы исследований биоматериала от больных животных; биохимический, гематологический и иммунологические методы анализа крови животных; физико-химические и микробиологические методы при изучении свойств пробиотика-энтеросорбента Сорболин и его компонентов.

Степень достоверности.

Результаты работы были получены при использовании сертифицирован-

ного оборудования и определяются достаточным количеством проведенных исследований на большой выборке лабораторных и сельскохозяйственных животных.

Опыты проведены в необходимой повторяемости для достоверности полученных данных экспериментальной работы, теория построена на известных и проверяемых данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации.

Использованы современные методики сбора исходной информации. Экспериментальные данные обработаны методом статистического анализа.

Соответствие паспорту специальности.

Диссертационная работа выполнена в следующих областях исследований:

- морфологические, биологические, физико-химические свойства патогенных бактерий и токсигенных грибов;
- прикладные проблемы экологии микроорганизмов;
- культивирование бактерий и грибов;
- разработка, стандартизация, технология и контроль производства биопрепаратов на основе микроорганизмов;
- природа патогенности, явления, процессы и механизмы взаимодействия микро- и макроорганизмов в условиях воздействия экзогенных и эндогенных факторов;
- методы выделения микроорганизмов из патологического материала, средства и методы диагностики инфекционных болезней животных, индикация патогенных микроорганизмов;
- общие и специальные мероприятия по борьбе, профилактике и ликвидации инфекционных болезней животных;
- средства и методы лечения и лекарственной профилактики инфекционных болезней животных;
- источники возникновения микотоксикозов, их диагностика, лечение и профилактика.

Работа соответствует паспорту специальности 06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Апробация работы.

Основные результаты работы изложены в отчетах НИР и доложены на IV Международном Агропромышленном молочном форуме (Московская обл., г. Красногорск, 2017) и на международных научно-практических конференциях «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии» (Москва, ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, 2014), «Современные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных» (Москва, ФГБНУ ВИЭВ, 2016).

Публикации.

По результатам диссертации опубликовано 9 работ, в том числе 5 научных статей в журналах, рекомендованных ВАК (Ветеринария, зоотехния, биотехнология), методические рекомендации, утвержденные РАН и методические рекомендации, утвержденные научно-исследовательским отделом ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина.

Личный вклад автора.

Автору принадлежат организация и непосредственное осуществление исследований по изучению антимикробной активности пробиотика-энтеросорбента Сорболин и его компонентов, изучению химического состава и биологических свойств препарата, разработке методов контроля препарата, определению острой и хронической токсичности Сорболина, лечебно-профилактической эффективности препарата против сальмонеллеза, микотоксикоза и эймериоза телят, совершенствованию метода определения количества бактерий рода *Bacillus* в новом пробиотике-энтеросорбенте Сорболин.

В работе использованы материалы, полученные лично автором, а также в соавторстве:

- Шайбель А.Я. – главный технолог ООО «Пробиотик-Плюс», г. Москва (изучение биологических свойств бацилл-компонентов Сорболина);

- Максе Л.П. – химик-технолог ОДО «Трепел-М», заведующая лабораторией ИК-спектроскопии ресурсного центра УО «Могилевский государственный университет им. А.А.Кулешова», Республика Беларусь (изучение физико-химических и биологических свойств полиминеральной породы Трепел из месторождения «Стальное» Хотимского района Могилевской области, Республика Беларусь);

- Королев Д.А. – директор ЧУП «Аграриум», г. Минск, Республика Беларусь (применение Трепела для профилактики микотоксикозов у телят).

Всем соавторам выражаю глубокую благодарность за помощь и поддержку.

Объем и структура диссертации.

Материалы диссертации изложены на 164 страницах машинописного текста и включают введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, в т.ч. выводы, данные о практическом использовании полученных научных результатов и рекомендации по использованию научных результатов, список использованной литературы (180 источников, из которых 87 отечественных и 93 иностранных авторов). Работа содержит 34 таблицы, 27 рисунков, 13 страниц приложений.

Основные положения и результаты, выносимые на защиту.

1. Результаты изучения антимикробной активности Сорболина в отношении патогенных бактерий, грибов и простейших, вызывающих у крупного рогатого скота желудочно-кишечные болезни и микотоксикозы.

2. Усовершенствованный метод последовательных десятикратных разведений для определения количества бацилл в пробиотических препаратах.

3. Результаты оценки лечебно-профилактической эффективности пробиотика-энтеросорбента Сорболин при сальмонеллезе, микотоксикозе и эймериозе крупного рогатого скота.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Состав пробиотических препаратов, применяемых в скотоводстве

В настоящее время одним из условий интенсификации животноводства в России является применение концепции рационального кормления животных. Данная концепция предусматривает применение полноценных кормов, обеспечивающих оптимальное использование генетического потенциала продуктивности животных и получение от них качественной продукции, благополучной в ветеринарно-санитарном отношении.

Организация кормления животных должна обеспечивать условия для эффективного использования кормов и регуляции микробиологических процессов пищеварения.

Исследованиями многих отечественных и зарубежных ученых [29, 48, 60, 76, 102, 121 и др.] установлено, что наряду с биологической ролью сбалансированного кормления животных большое значение имеет нормальная микрофлора желудочно-кишечного тракта, дефицит которой негативно влияет на многие функции организма.

Современные промышленные технологии животноводства ограничивают контакт животных с естественными донорами нормальной микрофлоры: почвой, водой, растениями. Ограниченный контакт молодняка с матерями, антисанитария ферм, чрезмерная концентрация поголовья на единицу площади, лечение антибиотиками, неполноценные и несбалансированные рационы кормления приводят к нарушению микрофлоры кишечника, ухудшению пищеварения, развитию желудочно-кишечных болезней.

Нарушение нормальной микрофлоры пищеварительного тракта ведет к уменьшению всасывания питательных веществ, раздражению кишечных стенок, вызывающему усиленную перистальтику, диарею и снижение переваримости корма. На этом фоне у животных формируются дисбактериозы, снижается естественная резистентность и продуктивность.

Оптимальным путем решения этой проблемы является включение в со-

став кормов пробиотических препаратов, в т.ч. пробиотических кормовых добавок, которые содержат живые микроорганизмы, а также микро-и макро-элементы, углеводы, адсорбирующие вещества и др. [74].

Рынок пробиотических кормовых добавок едва ли не единственная ниша, где лидируют российские производители. Из четырех десятков зарегистрированных в РФ пробиотических препаратов, половина — российского производства.

По данным Сальниковой А.Г., с соавт. [72], к наиболее востребованным отечественным производителям можно отнести ООО «Сиббиофарм» (Новосибирская обл.), ООО «Биотроф» (Санкт-Петербург), ООО «Научно-технический центр биологических технологий в сельском хозяйстве» (Белгородская обл.), ООО «Биопрогресс» (г. Щелково, Московская обл.), БФ «Компонент» (Москва), ООО «Пробиотик-Плюс» (Москва), ООО НПФ «Исследовательский Центр» (Новосибирск), ООО «Восток» (Кировская обл.), ООО НВП «БашИнком» (Уфа), ООО «Биотехагро» (Краснодар), ООО «НОВА» (Москва) и др.

Из иностранных компаний, наиболее успешно представляющих свои пробиотические препараты на российском рынке, можно назвать Biochem (Германия) и Kemin (Бельгия); также представлены пробиотики компаний Biotal (Великобритания) и Lesaffre (Франция). Традиционно стабильно присутствуют на рынке продукты Alltech (США). В последнее время активно продвигает свои пробиотики китайская компания Angel Yeast. На рынке есть и другие пробиотические препараты иностранного производства, их спектр постоянно расширяется - например, в текущем году два пробиотика зарегистрировала компания Biomin (Австрия).

Как видно на рис. 1, на первом месте по востребованности стоит пробиотик И-Сак, на втором – пробиотическая кормовая добавка ОЛИН, на третьем месте – Ветом.

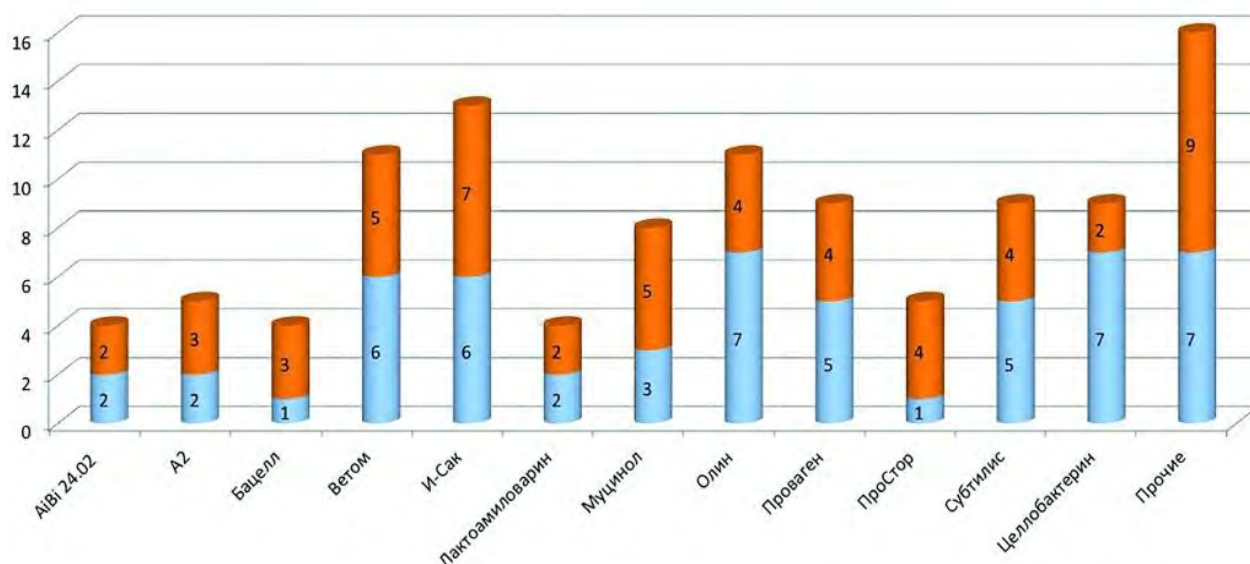


Рисунок 1 - Бренды популярных в РФ пробиотических препаратов

По мнению Грязневой Т.Н. [23], Черненко В.В. [82], Vesha L. [178] и др. перспективность применения пробиотиков определяется потребностями современного животноводства в стимуляторах продуктивности сельскохозяйственных животных, а также ухудшением экологической и санитарно-эпидемиологической обстановки. Пробиотические препараты используют для микробной коррекции среды кишечника после антибиотико- и химиотерапии, для стимуляции неспецифического иммунитета, профилактики желудочно-кишечных инфекций молодняка животных.

В России повышены санитарно-гигиенические требования к продуктам животноводства, в т.ч. и к содержанию антибиотиков, что ведет к увеличению спроса на пробиотические препараты.

В связи с этим, микроорганизмы-компоненты пробиотических препаратов, предназначенные для крупного рогатого скота, должны удовлетворять следующим требованиям [12]:

- быть нормальными обитателями желудочно-кишечного тракта здоровых животных, или сапрофитными почвенными микроорганизмами, непатогенными и нетоксичными;
- быть метаболически активными в экосистеме рубца;
- не подавлять жизнедеятельность инфузорий и целлюлозолитических

бактерий в рубце жвачных;

- переносить пассаж через многокамерный желудок крупного рогатого скота и метаболизировать в кишечнике животных, увеличивая привесы и повышая резистентность к заболеваниям;

- быть способными к колонизации пищеварительного тракта жвачных;

- быть стабильными и способными длительное время оставаться жизнеспособными при хранении.

К пробиотическим культурам относится целый ряд групп бактерий. Главная их ценность - способность жить и активно действовать в кишечнике [73].

Основные виды пробиотической микрофлоры:

1. Непатогенные разновидности *Escherichia coli*.
2. Некоторые штаммы бацилл (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*).
3. Энтерококки *E. faecium*, *E. salivarius*.
4. Молочнокислый стрептококк *S. thermophilus*.
5. Лактобактерии (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. johnsonii*, *L. gassed*).
6. Бифидобактерии (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. breve*, *B. adolescentis*).
7. Дрожжевые грибы *Saccharomyces boulardii* и *Saccharomyces cerevisiae*.

Большинство бактерий, обладающих пробиотическими свойствами, являются представителями родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*. Ими могут быть виды, представители родов *Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, дрожжи *Saccharomyces* [180].

Эффективность биопрепаратов усиливается при комбинировании нескольких видов микроорганизмов, принадлежащих к разным родам. Живые бактерии, наиболее часто используемые в производстве пробиотических кормовых добавок для жвачных, делятся на спорообразующие и вегетативные. Наиболее коммерчески популярные представители первой группы - это *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*. За счет наличия у этих бактерий спор,

они достаточно устойчивы к воздействию внешних факторов, таких как перепады температур, давление, влажность и т.п. Споры беспрепятственно проходят кислую среду сычуга и двенадцатиперстной кишки и бациллы активно размножаются в тонком и толстом отделах кишечника. При этом бациллы не являются представителями нормальной микрофлоры животных и не обладают способностью надолго заселять стенку кишечника.

Способность спорообразующих бактерий оказывать пробиотическое действие привела к разработкам на их основе препаратов, отнесенных к поколению так называемых «самоэлиминирующихся антагонистов», которые удаляются из организма после их применения (Субтилис, Олин, Ветом 1.1., Ветом 3.3., Споробактерин, Целлобактерин, Биоспорин, Субалин и др.).

Установлено, что бактерии рода *Bacillus* образуют бактериоцины, подавляющие рост патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, а также образуют субстанции, нейтрализующие бактериальные токсины. Бактерии рода *Bacillus* при пероральном применении активируют неспецифическую резистентность животных. Некоторые штаммы спорообразующих аэробных бактерий индуцируют в организме животных эндогенный интерферон не только при парентеральном, но и при пероральном их введении, который обладает как анти вирусным, так и антибактериальным действием. Способность споровых пробиотиков к синтезу комплекса ферментов обуславливает возможность их культивирования на растительных субстратах, обогащая их белком, витаминами и другими биологически активными веществами [9, 50, 52].

По компонентному составу выделяют 4 поколения пробиотических препаратов [24]:

I поколение - монокомпонентные препараты, содержащие один штамм бактерий;

II поколение - самоэлиминирующиеся антагонисты, к которым относятся представители рода *Bacillus*, главным образом, *B.subtilis* и *B.licheniformis*;

III поколение - комбинированные препараты, состоящие из нескольких штаммов бактерий [поликомпонентные] или включающие добавки, усилива-

ющие их действие;

IV поколение - иммобилизованные на сорбенте (сорбированные) живые бактерии.

В настоящее время на рынке пробиотиков востребованы комбинированные пробиотические препараты [пробиотики комбинируют с пребиотиками - синбиотики]. Пребиотики представляют собой вещества, которые не перевариваются и не всасываются в желудке и тонком отделе кишечника. Они избирательно стимулируют рост и биологическую активность микроорганизмов нормальной кишечной микрофлоры, положительно влияют на состав микробиоценоза [22].

К пребиотикам относят:

- пищевые волокна;
- пектин;
- инулин;
- олигофруктоза;
- , галактоолигосахариды;
- лактулоза;
- соевые пептиды.

Препаратами нового поколения являются сорбированные формы пробиотических кормовых добавок. Они содержат бактерии, иммобилизованные на частицах твердого сорбента (угли, целлюлоза, цеолиты и кремнеземы). Биологическая активность таких препаратов связана с тем, что микробная масса живых пробиотических бактерий иммобилизована на сорбенте, благодаря чему они лучше выживают и быстрее заселяют кишечник, а сорбент ускоряет дезинтоксикацию и репаративные процессы [7, 16, 32, 108, 132].

По данным Гусейнова М.М. [25] и Девришова Д.А. [27] энтеросорбенты, а также другие вещества с адсорбирующими свойствами, классифицируют следующим образом:

1. По типу субстанции, составляющей их основу (уголь активированный, уголь активированный СКН, карболонг, микросорб, сорбовит-К, белосорб-П,

карболайн, карбэдон, панзисорб, энсорал, энсорал-С, ультра-сорб и др.; аттапульгит, эросил, атоксил, полисорб-МП, энтеросгель, силард, силикс; энтеродез, энтеросорб; лигносорб, полифепан, билигнин, фильтрум; карбюлоза; хитин, хитозан; альгисорб; кайексилит, холестирамин; отруби злаковых, целлюлоза, альгинаты; смекта, каопектат, каолин, белая глина, алюминия гидроксид, альмагель, гастрал, сукральфат, силикагель, цеолит, ноолит).

2. По структурно-сорбционным характеристикам (высокодисперсные порошки, микроволокна; пористые сорбенты).

3. По консистенции (твердые порошкообразные сорбенты - ксерогели; субстанции, набухающие в воде; гидрогели и лиогели; взвеси - суспензии в растворах).

4. По химической природе поверхности (с гидрофильной сорбционной поверхностью частиц, с гидрофобной сорбционной поверхностью частиц, имеющие смешанную гидрофильно-гидрофобную поверхность).

5. По виду лекарственной формы - гранулы (СКН, АДБ, СКТ-АВЧ); порошки (белосорб-П, энтеросорб, хитин, каолин, карболен и др.); таблетки (карболен); болюсы (белосорб, карболайн, панзисорб, энсорал, энсорал-С, карбэдон); пасты; гели (энтеросгель); взвеси; коллоиды (энтеродез, полифепан, альма-гель); жидкости (абсорбенты) - альбумин, глицин и др.; инкапсулированные лекарственные формы (только импортные препараты); дражжированные лекарственные формы (белосорб); диетические добавки (пектины, МКЦ, хитин, хитозан).

6. По химической структуры (активированные угли, силикагели, цеолиты, алюмогели, алюмосиликаты, карбиды, оксиды, пищевые волокна).

7. По механизму сорбции (адсорбенты, абсорбенты, ионообменные материалы, сорбенты с сочетанными механизмами действия, сорбенты, обладающие каталитическими свойствами).

8. По селективности (селективные монофункциональные, селективные би- и полифункциональные, неселективные).

На основе различных энтеросорбентов разработано несколько десятков

препаратов, применяемых и в медицине и в ветеринарии.

Одним из таких препаратов является Зоонорм, который состоит из лиофилизированных бактерий *Bifidibacterium bifidum*, сорбированных на частицах активированного угля и лактулозы, а также КД-5, состоящий из лиофильно высушенных культур бацилл, адсорбированных на пшеничных отрубях, Энтеросгель – сорбент микотоксинов, Смекта, Полисорбин, Неосмектин, Приминкор и др., в состав которых входят как химические сорбенты, так и природные цеолиты, применяемые при патологиях пищеварительного тракта животных [11, 18, 27, 46, 65].

В составе пробиотических кормовых добавок для сельскохозяйственных животных, в т.ч. птицы широко используются в качестве сорбентов ископаемые цеолиты Хотимского (Республика Беларусь) и Хотынецкого месторождений (Орловская обл.).

Для кормления телят из цеолитовой муки Хотинецкого месторождения и сгущенной молочной гидролизованной сыворотки, обогащенной лактатами, готовят кормовую добавку СГОЛ-1-40, выпускаемую Клинецовским гормолзаводом Брянской области.

Цеолито-сывороточная добавка (ЦСД) имеет в своем составе практически полный набор макро- и микроэлементов, некоторые витамины, включая бета-каротин, определенное количество свободной и связанной молочной кислоты, сахара, жира, аминокислот, ферментов нуклеиновых кислот, протеолитических ферментов, липазу, галактозу, электролиты, антибиотические вещества, продукты метаболизма молочнокислых микроорганизмов. В основе положительного действия ЦСД на организм животных лежат высокие сорбционные и ионообменные свойства. Проходя по желудочно-кишечному тракту, ЦСД удаляет избыток жидкости, вредные газы, эндотоксины, тяжелые металлы, радионуклиды. ЦСД замедляет прохождение пищевого корма в пищеварительных органах животных, тем самым способствует усвоению питательных веществ корма, отложению энергии, азота кальция и фосфора [64].

Пробиотик-энтеросорбент КД-5, разработанная специалистами ФГБОУ

ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И. Скрябина, содержит 2 штамма бацилл - *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, сорбированных на пшеничных отрубях. Препарат оказался эффективным при профилактике ЖКБ разных видов животных [22].

Таким образом, компонентный состав пробиотических кормовых добавок, применяемых в скотоводстве, разнообразен, но на рынке ветеринарных препаратов наиболее востребованы и получили широкое распространение комбинированные препараты на основе антагонистически активных культур штаммов бактерий и энтеросорбентов.

1.2. Антимикробное действие пробиотиков-энтеросорбентов на основе диоксида кремния

Энтеросорбция относится к методам эфферентной терапии (от латинского слова «efferens» - удаление), т.е. лечение, направленное на выведение из организма различных патологических продуктов и субстратов. Методы эфферентной терапии известны не одну тысячу лет. Уголь для наружного и внутреннего применения использовали в Египте более трех тысяч лет назад. Описания энтеральных адсорбентов и их целительных свойств содержатся в медицинских трактатах врачей Древней Греции, в том числе и Гиппократ [13, 27].

По данным Шадрина А.М. [85], энтеросорбция в древней Руси относилась к народным средствам лечения. Назначение знахарем березового угля продлило жизнь Александру Невскому, который был отравлен монголами в 1263 году. Древесным углем вместе с порохом присыпали раны, а толченый уголь давали внутрь при поносах.

После открытия в XVIII веке сорбционных свойств угля Ловиц Т.Е. теоретически обосновал метод энтеросорбции. Адсорбенты на основе лигнина нашли широкое применение для лечения диспепсий у германских военнослужащих в годы второй мировой войны. Также лигниновые сорбенты до-

вольно успешно использовались в период чернобыльской катастрофы в зоне радиоактивного заражения. К настоящему времени энтеросорбенты прошли клиническую апробацию в различных медицинских учреждениях для лечения большого количества заболеваний и их осложнений [157, 169].

Метод энтеросорбции является одним из самых безопасных, практически не имеющих противопоказаний и при этом высокоэффективным методом очищения организма [31].

По данным Бикташева Р.У. [3], энтеросорбенты, применяемые в скотоводстве, можно разделить на четыре группы, в соответствии с размером площади активной поверхности абсорбции на 1 грамм вещества (табл. 1).

Таблица 1 - Поколения энтеросорбентов

Поколения энтеросорбентов	Химическая структура и природа материала	Площадь активной поверхности абсорбции на 1 г вещества	Суточная доза, г
I	Угольные сорбенты (активированный уголь)	1,5-2 м ² /г	20-30
II	Полимерные сорбенты, сорбенты из природных глин (Полифепан, Смекта, Диосмектит)	до 100 м ² /г	9-12
III	Кремниевые, в т.ч. гидрогелевые сорбенты (Энтеросгель)	180-300 м ² /г	до 45
IV	Сверхвысокодисперсный диоксид кремния (Белая таблетка)	более 400 м ² /г	2-4

Энтеросорбенты обладают большой адсорбционной поверхностью, являются нерастворимыми в биологической среде, интактными к слизистым оболочкам желудочно-кишечного тракта и осуществляют связывание экзогенных и эндогенных веществ в желудочно-кишечном тракте (в том числе токсических соединений и биологически активных веществ) путем адсорбции, абсорбции, ионообмена и комплексообразования с последующим выве-

дением данных веществ из организма [56, 57, 85, 94, 106, 154].

На сегодняшний день «идеальный» энтеросорбент для крупного рогатого скота должен удовлетворять следующим требованиям:

1. Иметь высокую эффективность за счет большой площади активной поверхности, которая дает возможность применения небольших доз.
2. Обладать высокой сорбционной емкостью в отношении токсинов белкового и липопротеидного происхождения.
3. Не повреждать слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта и иметь подтвержденную безопасность при использовании (отсутствие токсических и аллергических свойств).
4. Обладать высокой селективностью действия с минимальной потерей эссенциальных микронутриентов.
5. Не должен растворяться и всасываться в пищеварительном тракте.
6. Не должен оказывать системного действия.
7. Обладать нейтральным вкусом.
8. Иметь удобную форму выпуска.

Требованиям «идеального» энтеросорбента для крупного рогатого скота наиболее соответствуют сорбенты на основе диоксида кремния. Данные сорбенты обладают наибольшей площадью активной поверхности абсорбции на 1 грамм вещества и принадлежат к IV поколению.

К таким энтеросорбентам относится биологически активная добавка «Белая таблетка». При её производстве используется экологически чистая, сверхвысокодисперсная оригинальная субстанция диоксида кремния последнего поколения немецкой компании Degussa (Evonik) с размером частиц 7–10 нм, что позволило значительно повысить сорбционную емкость (с площадью активной поверхности 400 м²/г), опередив все прочие энтеросорбенты, включая и те, которые имеют в своем составе обычный диоксид кремния. Данная субстанция создана по уникальной запатентованной технологии производства таблетированной формы выпуска, соответствует европейским стандартам GMP, удобна в применении и дозировании, обладает высокой эффектив-

ностью действия. Сверхвысокодисперсный диоксид кремния с размером частичек 7–10 нм имеет непористую структуру и поэтому обладает высокой избирательностью адсорбции. Связано это с тем, что площадь поверхности сорбентов делится на пассивную, приходящуюся на поры, и активную площадь. Так как сверхвысокодисперсный диоксид кремния имеет непористую структуру, то вся его удельная площадь поверхности является активной, что и предопределяет оказываемый им быстрый, выраженный и избирательный терапевтический эффект в обычных терапевтических дозах. Избирательность адсорбции связана с быстрой и высокой скоростью связывания белковых молекул на поверхности частиц высокодисперсного диоксида кремния, а не в порах, как у большинства других сорбентов. Скорость связывания белков достигает 80% от максимальной за первую минуту инкубации с раствором белка и 90% – за первые 10 минут инкубации [117].

В случае сорбентов, имеющих поры, время достижения адсорбционного равновесия определяется скоростью диффузии белковых глобул в поры и измеряется десятками и сотнями часов. Как известно, белковую природу имеют микробные ферменты, экзо- и эндотоксины, большинство антигенов и аллергенов, токсины эндогенного происхождения и другие патогенные субстраты.

Таким образом, при применении сверхвысокодисперсного диоксида кремния адсорбции подвергаются микроорганизмы (до 10 миллиардов микробных тел на 1 г), белки, микробные токсины (600 – 800 мг на 1 г), азотсодержащие низкомолекулярные соединения, алкалоиды, средние молекулы, индол, скатол, фенолы, аммиак, креатинин, холестерин, свободные жирные кислоты, стероидные гормоны, тяжелые металлы в комплексе с белками, инсектициды, гербициды, дефолианты и другие бытовые яды, анальгетики, антипиретики, гипнотики, антидепрессанты. На поверхности частиц высокодисперсного диоксида кремния не адсорбируются аминокислоты, витамины, минеральные вещества, микроэлементы, нейтральные липиды, моносахариды, дисахариды и большинство полисахаридов [105].

Исследования в медицине и ветеринарии диоксида кремния показали

положительные результаты при диареях, ботулизме, микотоксикозах, протозоозах [129, 148].

Экспериментально доказано, что энтеросорбенты четвертого поколения, основным компонентом которого является диоксид кремния, обладают более высокой адсорбционной способностью по отношению к токсичным тяжелым металлам. Например, их адсорбционная емкость по ртути в 5 раз больше, чем у микроцеллюлозы, в 4 раза больше, чем у полифепана и в 2,5 раза - чем у энтеросгеля. Использование диоксида кремния позволяет свести к минимуму потери организмом полезных компонентов. Так, его адсорбционная емкость по магнию в 3 раза меньше, чем у микроцеллюлозы, в 1,5 раза — чем у полифепана и в 1,2 раза - чем у энтеросгеля. Диоксид кремния поглощает кальций в 14 раз меньше, чем микроцеллюлоза, в 25 - чем полифепан и в 18 раз - чем энтеросгель, адсорбция витамина С в 6-10 раз меньше, чем энтеросорбентами более ранних поколений [87].

В настоящее время, в связи с ухудшением условий окружающей среды, популярность энтеросорбентов на основе диоксида кремния значительно возросла как для людей, так и для животных [30, 59, 83, 97, 125, 150].

По мнению Артемова И.И. с соавт. [2] и Вильвер Д.С. [10], наиболее актуальными для ветеринарно-санитарной экспертизы продуктов животноводства являются вопросы обнаружения и оценки влияния на организм антибиотиков, гормональных препаратов, пестицидов, тяжелых металлов и радионуклидов. Наиболее распространенным путем снижения содержания опасных веществ является использование метода энтеросорбции.

Ветеринарные специалисты подбирают энтеросорбенты для крупного рогатого скота по химической структуре и механизму действия. Сорбенты в животноводстве используют в качестве кормовой добавки в борьбе с вредными веществами, которые вырабатываются в процессе обмена веществ или поступают с кормом, оказывая негативное воздействие на организм. Их связывание и выведение сорбентами обеспечивает очищение организма и, как следствие, улучшение продуктивности и сохранности телят [45].

В скотоводстве кремний содержащие минералы и добавки часто применяются для укрепления костяка коров при ацидозах и кетозах. Исследования воздействия диоксида кремния на коров и телят показали, что его использование в активной форме (аморфный кремнезем) позволяет увеличить привесы и улучшить качество молока и мяса. Доказано положительное влияние кремнийбиоорганических сорбентов для профилактики акушерской патологии у коров. В частности, эффективность препаратов на основе пирогенного аморфного кремнезема "Полисорб ВП" и "Экосил" подтверждена при изучении продуктивности коров на Южном Урале. Выявлена также терапевтическая эффективность препарата "Полисорб ВП" при диспепсии телят [37, 39, 62, 84, 103, 135-147].

По данным Палий Н.Г. [55], Энтеросгель относится к высокоэффективным энтеросорбентам. Сорбент представляет собой гелевую форму, что качественно отличает его от других сорбентов - не пылит, более равномерно смешивается с кормом, что исключает возможность нарушения мембранного пищеварения. За счет очень небольшого размера частиц, не более 0,09 мкм, происходит максимальный контакт Энтеросгеля с кормом. Он предназначен для связывания в кормах широкого спектра микотоксинов и повышения продуктивных показателей крупного рогатого скота.

Энтеросгель обладает высокоэффективными фармакологическими свойствами при острых желудочно-кишечных расстройствах у телят. При его использовании вместе с симптоматическим лечением сроки выздоровления телят сокращаются почти на двое суток в сравнении с антибиотикотерапией, применяемой в хозяйстве [26].

Были проведены исследования по изучению относительной сорбции микотоксинов из водных растворов диоксида кремния, в результате чего было установлено, что данный сорбент имеет высокую сорбционную активность в отношении всех известных на сегодняшний день микотоксинов [34, 41, 88, 98, 109-116].

При применении сорбентов микотоксинов в современных условиях при-

готовления комбикормов, бытует мнение о негативной стороне их введения, а именно о связывании витаминов и микроэлементов и выведении их из организма животного. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, проведенный зарубежными учеными, показал, что добавление в комбикорма для коров сорбентов на основе диоксида кремния, не приводит к связыванию витаминов и незначительно связывает микроэлементы без ущерба для организма животного [151-153, 164-168].

Ряд исследователей видят в сорбентах альтернативу применения антибиотиков, в связи с чем рекомендуют использовать их для профилактики и лечения множества заболеваний. Это особенно актуально при сложившемся в последние годы неблагоприятном соотношении содержания в кормах тяжелых металлов и микотоксинов, что вызывает нарушение обменных процессов у животных, высокую заболеваемость и снижение продуктивности [12, 35, 66, 89-93].

Таким образом, использование энтеросорбентов на основе диоксида кремния и его активной формы – аморфного кремнезема в рационе кормления крупного рогатого скота, способствует нормализации функций систем органов, повышению продуктивности и воспроизводительных качеств, сохранности молодняка, а также повышению качественных показателей мяса и молока и не влияет на безопасность продуктов животноводства.

1.3. Эффективность применения в качестве энтеросорбентов природных цеолитов Хотимского и Хотынецкого месторождений

Все шире в мировой сельскохозяйственной практике используются природные цеолиты - группа (около 50 видов) близких по составу и свойствам минералов, обладающих уникальными адсорбционными, ионообменными, каталитическими и пролонгирующими свойствами [4].

После дегидратации природные цеолиты (трепелы) имеют вид микроскопической кристаллической «губки» с количеством пор до 50% объема каркаса, что и определяет высокую емкость катионного обмена, достигаю-

щую у большинства цеолитов 2 мг-экв/г массы [15].

Поначалу цеолитсодержащие трепелы применялись в основном при переработке бытовых отходов и очистке воды в качестве адсорбентов, что обусловлено их высокой пористостью, большой удельной поверхностью и ионообменными свойствами.

В сельскохозяйственной практике трепелы, содержащие практически все макро- и микроэлементы, по которым нормируются рационы, стали использоваться в производстве кормовых добавок для животных и птицы. Обладая большой активной поверхностью, они избирательно адсорбируют в желудочно-кишечном тракте углекислый газ, аммиак, метан, сероводород, углеводороды, воду, фенолы, экзо- и эндотоксины, тяжелые металлы, радионуклиды, гнилостные микроорганизмы и т.д. [5].

Доказано, что адсорбирующая эффективность трепелов зависит не столько от их химического состава, сколько от способности содержащихся в них монтмориллонита и клиноптилолита поглощать и удерживать на своей поверхности при непосредственном контакте молекулы других веществ, изменяя при этом их концентрации [6].

По мнению Голушко В.М. с соавт. [40], природные цеолиты являются сравнительно новым и чрезвычайно перспективным видом полезных ископаемых, объемы применения которых во всем мире ежегодно растут. Особенно перспективно использование цеолитов в скотоводстве.

Основные направления использования природных цеолитов – производство кормовых добавок для крупного рогатого скота, использование при очистке воды, применение в качестве адсорбентов.

В практике кормления сельскохозяйственных животных цеолитовые туфы начали использовать как минеральные подкормки, поскольку в них содержатся практически все макро- и микроэлементы, по которым нормируют питание сельскохозяйственных животных, однако в дальнейшем было обращено внимание на то, что эффективность использования цеолитов не столько зависит от их химического состава, сколько от адсорбирующей способности

[58].

В настоящее время в сельском хозяйстве используют такие цеолитосодержащие породы, как трепела, опоки, мергели, диатомиты, бентониты, ломониты и др. [79].

Трепел (опал-кристобалитовая порода) обладает хорошими адсорбирующими свойствами, которые обусловлены высокой пористостью, большой удельной поверхностью и ионно-обменными свойствами. Известно около 40 видов природных цеолитов (действующее вещество), наиболее распространенными из которых являются клиноптилолит, морденит, шабазит, феррьерит, эрионит и филлипсит. Цеолиты разных месторождений различаются по химическому составу, свойствам, прочности и цвету, которые зависят от типа цеолита, его содержания в породе, глубины залегания и других примесей, следовательно, и эффективность их использования в кормлении животных неодинакова [99, 101].

Опыт широкого использования трепела в различных хозяйствах России, США, Японии, Германии и других странах показывает, что включение его в рационы животных повышает усвояемость питательных веществ кормов; укрепляет иммунитет; сокращает падеж (особенно в раннем возрасте); нормализует обмен веществ; предупреждает появление диспепсии; выводит из организма токсичные и вредные продукты метаболизма; предотвращает заболевания, связанные с дефицитом микроэлементов. Выявлены заметные положительные влияния цеолита на перевариваемость сухого и органического веществ корма, безазотистых экстрактивных веществ, азота, усвоение кальция и фосфора [104, 107, 119, 131].

На территории Республики Беларусь разведано месторождение трепела в Хотимском районе Могилевской области. Этот трепел характеризуется наличием пяти фракций - кальцита, монтмориллонита, цеолита, рентгеноаморфного опала и опал-кристобалита. Кальцит (CaCO_3) представлен мельчайшими кристалликами неправильной формы и их микроагрегатными скоплениями размером 1-20 микрон. Основная часть зерен кальцита - обломки и остатки

скелетов известкового нанопланктона. Кальцит в породе присутствует постоянно, содержание его изменяется от 15 до 34%. Трепел обладает хорошими адсорбционными свойствами: активная площадь составляет 42,1 м²/грамм, объем пор - 0,104633 см³/г, средняя ширина пор - 9,76488 нм [28].

Трепел в своем составе содержит ряд макро- и микроэлементов, необходимых для жизнедеятельности сельскохозяйственных животных, а также обладает сорбционными и ионообменными свойствами.

В результате проведенных учеными Республики Беларусь [Голушко О.Г., Козинец А.И., Линкевич С.А., Надаринская М.А., Козинец Т.Г., Новик Л.В.] исследований в ГП «Жодино Агро Племя-Элита» Смолевичского района Минской области в 2011 г по изучению фазового состава трепела месторождения «Стальное» Хотимского района Могилевской области установлено преобладание в нем монтмориллонита с равномерным распределением кальцита, клиноптилолита, кварца, гидрослюда и полевого шпата. В трепеле выявлено максимальное количество питательных минеральных веществ – кальция (9,57%), железа (8702 мг/кг) и магния (2420 мг/кг). Введение трепела в количестве 1,0 и 2,0% в концентратную часть рационов крупного рогатого скота способствовало положительной гомеостатической перестройке организма, что отразилось в улучшении морфофункциональных свойств форменных элементов крови и повышении концентрации минеральных веществ [36].

Использование в составе концентратной части рационов молодняка крупного рогатого скота трепела в количестве 1,0 и 2,0% способствует повышению среднесуточного прироста на 2,4 и 7,5% и снижению затрат кормов на получение продукции на 0,5 и 2,5% соответственно [28].

Экономическая эффективность использования трепела для молодняка крупного рогатого скота выразилась снижением себестоимости прироста на 1,2% в группе, получавшей 1,0% добавки, и на 5,5% при использовании нормы ввода трепела 2,0%, что, в свою очередь, способствовало получению

прибыли за трехмесячный период исследований в размере 3,3 и 15,9 тыс. руб. на 1 гол., соответственно [31].

В филиале «Экспериментальная база «Жодино» РДУП по племенному делу «Заречье» Минской области Голушко О.Г., Козинец А.И. и Линкевич С.А. проводили исследование эффективности ввода трепела месторождения «Стальное» Хотимского района Могилевской области в составе комбикормов для высокопродуктивных коров в первой и второй трети лактации и для молодняка крупного рогатого скота. При скармливании трепела в составе комбикормов способствовало положительной гомеостатической перестройке организма, что отразилось на улучшении морфофункциональных свойств форменных элементов крови, повышении скорости течения окислительно-восстановительных процессов крови и интенсификации метаболических превращений в целом. Использование добавки кормовой хотимской в составе концентратов для молодняка крупного рогатого скота способствует повышению продуктивности животных, а также положительной гомеостатической перестройке организма, что отражается в улучшении морфологических и биохимических показателей крови. В результате проведенных исследований установлена наиболее эффективная норма ввода добавки молодняку крупного рогатого скота в количестве 2,0% по массе концентратов, что способствует повышению среднесуточного прироста на 7,5% [15, 40, 78].

Так же в хозяйстве Минской области Гринь М.С. с соавт. [36, 75], был поставлен эксперимент, проведенный на телятах и длившийся 44 дня. В результате изучения эффективности использования трепела в качестве наполнителя для премиксов для телят 30-75 дневного возраста при 50%-ной и 100%-ной замене отрубей, используемых в качестве стандартного наполнителя, было установлено положительное влияние на продуктивность животных и снижение затрат на единицу продукции. Использование трепела в соотношении 50:50 в составе наполнителя премиксов способствовало повышению среднесуточного прироста молодняка крупного рогатого скота на 5,3% при снижении затрат кормов на 4,3%. Включение в состав комбикорма пре-

микса с использованием нового наполнителя в количестве 50% (ПКР-1-50) снижало себестоимость прироста на 5,0% и обеспечивало получение дополнительной прибыли на одну голову в количестве 12,7 тыс. руб. за период его использования.

В последние годы в Центральном регионе России начало функционировать Хотынецкое месторождение (Орловская область) цеолитсодержащих трепелов. Это мягкие природные минералы осадочного происхождения, основу которых составляют кремнийсодержащие остатки диатомовых водорослей, простейших морских губок, морских игл и радиолярий, сложенных преимущественно из необходимых и доступных для растений соединений кремния, кальция, магния, калия, фосфора, меди, марганца, кобальта, цинка, бора и других элементов. В состав трепелов входит также до 35% цеолита (клиноптилолит) и глинистые минералы – до 7%. По содержанию активного кремния (7-9%) эти агроруды можно отнести к природным кремнийсодержащим полиминеральным удобрениям [14].

В результате проведенных многолетних опытов на крупном рогатом скоте, было установлено, что Хотынецкие природные цеолиты оказали положительное влияние на физиологические и иммунобиологические показатели крови и продуктивность животных [44].

По данным российских и белорусских ученых, природные цеолиты следует добавлять в корм лактирующим и сухостойным коровам, молодняку крупного рогатого скота в количестве 3-5% от сухого вещества корма [44, 67].

Таким образом, Хотимские и Хотынецкие природные цеолиты можно использовать в сочетании с различными биологически активными добавками, пробиотическими препаратами, при добавлении цеолитов в основной рацион кормления крупного рогатого скота.

1.4. Механизмы лечебно-профилактического действия пробиотиков-энтеросорбентов, используемых при различных патологиях крупного рогатого скота

На фоне высокой обсемененности кормов и различных объектов внешней среды условно-патогенными микроорганизмами происходит опережающее заселение кишечника новорожденных животных энтеробактериями и замедление процессов колонизации кишечной стенки нормальной микрофлорой - молочнокислыми бактериями, бифидобактериями, пропионовокислыми бактериями и энтерококками. Поэтому болезни молодняка, сопровождающиеся диарейным синдромом, остаются наиболее сложной проблемой ветеринарной медицины [24].

Существующий в настоящее время комплекс технологических, зоогигиенических, ветеринарно-санитарных приемов, используемых при выращивании молодняка животных, не позволяет поддерживать высокий уровень резистентности их организмов к бактериальным инфекциям, вызванным условно-патогенной микрофлорой, а применение антибиотиков для профилактики и лечения молодняка при желудочно-кишечных болезнях небезопасно и становится все менее эффективным [33].

При этом следует отметить тенденцию увеличения массовой заболеваемости и падежа новорожденных телят от желудочно-кишечных инфекций, поскольку повсеместно используемая интенсивная технология выращивания животных искажает, в конечном итоге, сами процессы формирования кишечного микробиотопа у новорожденных животных [22].

По сообщениям Левахина В.И. с соавт. [61], под действием ряда экзогенных и технологических факторов, к каковым относится, в частности, применение антибиотиков, нарушается микрoэкологическое равновесие кишечного биотопа, что приводит к доминированию потенциально патогенных бактерий, ускорению темпов изменчивости самих условно-патогенных микроорганизмов, усилению генетического обмена и скорости формирования клонов, несущих плазмиды лекарственной устойчивости и нередко включа-

ющих гены, детерминирующие адгезивные, цитотоксические и энтеротоксические свойства энтеробактерий.

Для восстановления микрофлоры кишечника известно использование различных кормов, обогащенных биологически активными кормовыми добавками, натуральными продуктами с лекарственными свойствами, минеральными соединениями и витаминами, пробиотиков, которые содержат живые микроорганизмы и их метаболиты [118, 127, 156].

На специальном коллоквиуме Американской академии микробиологии в ноябре 2005 г. обсуждались вопросы взаимосвязи между микроорганизмами, иммунитетом и болезнями, доказательные данные в отношении лечебных свойств пробиотических препаратов и возможные перспективы их использования. Учеными было признано, что применение пробиотиков может оказывать противoinфекционное, иммунномодуляторное воздействие, повышать барьерные функции [физиологические механизмы, защищающие организм от воздействия окружающей среды, препятствующие проникновению в него бактерий, вирусов и вредных веществ], стимулировать моторику и экскреторную функции кишечника [173].

Положительное действие пробиотических препаратов на организм связано с влиянием на разные звенья функционирования микрофлоры кишечника [51]:

- препараты обладают угнетающими свойствами по отношению к широкому спектру болезнетворных и условно-болезнетворных микроорганизмов за счет выработки антибактериальных веществ и конкуренции за питательные вещества, которые лимитируются, и места адгезии на клетках тканей слизистой кишечника;

- влияют на ферментативную и синтетическую активность кишечных микроорганизмов;

- стимулируют иммунную систему всего организма.

Введенные с препаратами пробиотические штаммы взаимодействуют с сообществом бактерий кишечника, выделяют метаболиты, влияющие на ак-

тивность иммунной, гормональной, пищеварительной систем организма-хозяина.

В последнее десятилетие концепция пробиотиков претерпела существенные изменения. Возросло внимание исследователей к структурным компонентам и продуктам метаболизма пробиотических микроорганизмов, к составу и качеству наполнителей и дополнительных действующих веществ. Данные изменения связаны с расширением представлений о биологической эффективности пробиотических препаратов.

Наиболее популярными по ряду причин стали пробиотические кормовые добавки – энтеросорбенты на основе культур штаммов бацилл и природных цеолитов [31, 98].

Споры бацилл после попадания в желудочно-кишечный тракт иницируются и в процессе прорастания начинают продуцировать комплекс биологически активных веществ - антибиотиков [полимиксины, колистин], бактериоцинов и сурфактантов. Указанные вещества лизируют чувствительные к ним патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, особенно грамотрицательные бактерии, освобождая сайты адгезии для представителей нормофлоры.

Бациллы в процессе деления синтезируют амилазу, протеазу, липазу, гемицеллюлазу, регуляторные пептиды, за счет чего желудочный секрет дополнительно обогащается ферментами, другими БАВ, которые способствуют нормализации процессов пищеварения и укрепления организма в целом. Стимулируется размножение лакто- и бифидобактерий, других представителей индигенной микрофлоры, в свою очередь, синтезирующих аминокислоты (в т.ч. незаменимые), витамины, которые на микроэкологическом уровне усиливают комплексное лечебно-профилактическое действие спорообразующих пробиотиков.

Кроме того, пробиотические бациллы при пероральном применении существенно повышают неспецифическую и специфическую резистентность макроорганизма, т.е. восстанавливают нарушенную патологией иммунную

статус, увеличивают продукцию эндогенного интерферона, усиливают функциональную активность макрофагальных клеток, повышают фагоцитарную активность моноцитов и нейтрофилов [24].

Таким образом, на животное в условиях терапии споровыми пробиотическими препаратами-энтеросорбентами действует комплекс факторов, которые способствуют улучшению здоровья организма в целом. Это проявляется в улучшении качества пищеварения, создании конкурентного преимущества для симбиотической микрофлоры, деятельность которой обогащает организм аминокислотами и витаминами. Укрепляются также механизмы иммунитета: с помощью специализированных клеток выводятся вредные для организма вещества. В целом имеет место качественно новый уровень саморегуляции организма путем экологически точного и постоянного воздействия на его микробиоту [120].

К прогрессивным формам препаратов нового поколения относятся сорбированные формы пробиотиков, которые содержат бактерии, иммобилизованные на частицах твердого сорбента. За счет химических и электростатических сил взаимодействие таких форм со стенкой кишечника выше. Сорбент ускоряет дезинтоксикацию и репаративный процесс [153].

Наиболее часто используемые природные сорбенты - угли, цеолиты и кремнеземы. Они обладают относительно хорошей сорбционной и ионообменной способностью, имеют сильно развитый поверхностный каркас, с порами разного диаметра, способными взаимодействовать с различными веществами и клетками пробиотика. Биологическая активность таких препаратов связана с тем, что микробная масса живых пробиотических бактерий иммобилизована на сорбенте, благодаря чему они лучше выживают и быстрее заселяют кишечник. Иммобилизованная форма пробиотического препарата позволяет существенно повысить защиту бифидо- и лактобактерий при прохождении через желудок, где обычные препараты, содержащие лиофильно высушенные клетки пробиотических культур бактерий, теряют более 90% активности [63].

На основании многолетних исследований белорусских ученых - Козинец А.И., Голушко О.Г., Надаринская М.А., Гонакова С.А., Ларионова Н.В., Гринь М.С. и др. [84], композиции «цеолиты + пробиотик» обладают выраженными иммунокорректирующими свойствами, нормализуют микробиоценоз желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота, повышают неспецифическую резистентность организма, стимулируют функциональную деятельность пищеварительной системы, обладают, как правило, детоксикационными свойствами.

Биологическая эффективность сорбированных пробиотиков позволяет применять уменьшенные дозы препарата. В частности, одна доза Бифидумбактерин форте [пробиотик, сорбированный на косточковом активированном угле] содержит не менее 10^7 КОЕ/г бифидобактерий, что сравнимо с содержанием бактерий в кисломолочных продуктах, и на два порядка меньше дозы, рекомендованной для обычных пробиотиков. Адсорбированные на нейтральном фитоносителе клетки пробиотических микроорганизмов содержатся в препаратах кормового назначения Целлобактерин и Целлобактерин-Т, доза ввода которых в корма составляет 1 кг на тонну комбикорма. Учитывая, что в 1 т комбикорма с Целлобактерином-Т содержится 10^4 КОЕ/г пробиотических штаммов бактерий, это составляет 10^7 КОЕ на 1 кг препарата [42, 49, 170].

В условиях кишечного дисбактериоза, как правило, повышается интестинальная проницаемость, а бактериальная транслокация возрастает в несколько раз с параллельным изменением ее состава. Патология толстой кишки ответственна за увеличение риска развития синдрома эндогенной интоксикации. Так как данный процесс носит циклический характер, то есть токсические продукты, прежде чем покидают организм, многократно всасываются и вновь экскретируются кишечной системой, то использование энтеросорбентов заключается в прерывании этого «порочного» круга, фиксации ауто- и экзотоксинов на поверхности сорбента с последующим их удалением с фекалиями [96].

Наиболее важными аспектами взаимодействия пробиотических штаммов с микрофлорой кишечника и организмом животного являются образование антибактериальных веществ, конкуренция за питательные вещества и места адгезии, изменение микробного метаболизма (увеличение или уменьшение ферментативной активности), стимуляция иммунной системы, противораковое и антихолестеринемическое действие [61].

Молочнокислые бактерии продуцируют множество антагонистических факторов, которые включают метаболические конечные продукты, антибиотикоподобные вещества и бактериоцины, оказывают полезное действие посредством образуемых антибиотиков, продукции органических кислот и изменения величины pH, образования перекиси водорода, снижения окислительно-восстановительного потенциала среды, конкуренции за места адгезии и питательные вещества.

Бактерии других систематических групп и, в частности, микрофлора рубца, могут продуцировать биологически активные вещества, необходимые для роста других бактерий, утилизировать вредные продукты обмена и, таким образом, поддерживать экологическое равновесие в пищеварительном тракте. Поэтому наиболее перспективными, хотя и технологически более сложными, могут быть пробиотические препараты, которые состоят из бактерий различных видов (микробный консорциум), находящихся в синтрофных взаимоотношениях [43].

Бифидобактерии образуют в процессе своей жизнедеятельности молочную, уксусную, муравьиную и янтарную кислоты, снижающие pH среды кишечника и препятствующие, тем самым, колонизации его посторонними, попавшими извне, микроорганизмами. Кишечная палочка способна к синтезу колицинов и микроцинов — специфических белков, обладающих антибактериальной активностью.

Сапрофитные бактерии рода *Bacillus* продуцируют антимикробные вещества и ферменты, обладающие избирательным действием — инактивируют патогенные микроорганизмы и способствуют росту и размножению соб-

ственных полезных микроорганизмов животных, влияют на состояние синтетической функции печеночных клеток, участвуя в печеночно-кишечной циркуляции важнейших компонентов желчи — солей желчных кислот, холестерина и желчных пигментов, участвуют в синтезе витаминов группы В, К, никотиновой и фолиевой кислот, различных биологически активных соединений: эстрогенов, промазина, морфина, колхицина, диэтилбестрена, дигоксина и др. Кроме того, пробиотические штаммы микроорганизмов активно участвуют в формировании иммунобиологической реактивности макроорганизма [80].

Пробиотические кормовые добавки на основе бактерий рода *Bacillus* обладают антагонистической активностью к широкому кругу патогенных и условно-патогенных микроорганизмов: стафилококкам, протеем, кандидам, шигеллам, эшерихиям, псевдомонадам, стрептококкам. Применение споровых пробиотиков предупреждает развитие дисбактериозов, способствует стимуляции клеточных и гуморальных факторов иммунитета, повышает неспецифическую резистентность организма, стимулирует регенерационные процессы в организме, нормализует обмен веществ.

По этой причине антимикробный и стимулирующий потенциал пробиотиков на основе безвредных и эффективных штаммов бацилл *B. subtilis* и *B. licheniformis* существенно выше, чем пробиотиков на основе лакто- и бифидобактерий [120].

Бактерии рода *Bacillus*, как сапрофиты, способны длительно существовать в окружающей среде за счет их генетически детерминированной способности к продукции различных групп ферментов, антибиотиков, а также спорообразования. Такими способностями не обладают ни лакто-, ни бифидобактерии.

По данным Смоленцева С.Ю. [74], механизм действия пробиотических препаратов, в отличие от антибиотиков, направлен не на уничтожение, а на конкурентное исключение условно-патогенных бактерий из состава кишечного микробиотопа, чтобы предотвратить усиление и передачу факторов ви-

рулентности в популяции условно-патогенных бактерий.

По мнению Foglar G. [123], для восстановления микробиологического баланса усилия должны прилагаться по двум основным направлениям: избавление организма от избыточного количества патогенных микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности, с другой стороны повышение резистентности и восстановление структуры слизистой оболочки.

Учитывая потенциально фатальные результаты прогрессирующей хронической интоксикации, эфферентная (сорбционная) детоксикация была и остается одним из основных направлений современной терапии интоксикационного синдрома различного генеза. Среди средств неинвазивной эфферентной терапии интоксикационного синдрома ключевая роль отводится энтеросорбентам. Сорбенты могут взаимодействовать с токсинами различными способами, в зависимости от характера сорбции: образование твёрдого или жидкого раствора, поглощающие [сгущение] на своей поверхности, и химическое взаимодействие. Энтеросорбция используется в медицине и ветеринарии для лечения острых и хронических заболеваний, сопровождающихся токсикозами, нарушениями пищеварения, иммунного статуса, метаболизма липидов, желчных кислот и других видов обмена [155].

По данным Николаева Л.Г. с соавт. [87] важнейшей задачей является создание и применение в практике таких кормовых смесей, которые бы максимально усваивались организмом для обеспечения его жизненных функций и обладали профилактическими свойствами.

Поэтому, пробиотические кормовые добавки считаются эффективным элементом технологии производства безопасной продукции животноводства и рассматриваются ведущими специалистами как «...часть рационального потенциала животных, поддержания их здоровья и получения продукции высокого качества, безопасной как в бактериальном, так и в химическом отношении» [33].

В последнее время появились новые отечественные пробиотические препараты, которые требуют детального изучения и внедрения в производ-

СТВО.

Моноспорин состоит из спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis*, которые, размножаясь в кишечнике, выделяют биологически активные вещества, являющиеся антагонистами по отношению к некоторым патогенным микроорганизмам, таким образом предотвращая возникновение желудочно-кишечных заболеваний. Они увеличивают усвояемость корма, повышают общую резистентность организма, сохранность молодняка и продуктивность животных.

Пробиотическая добавка к корму Бацелл включает в себя молочнокислые и спорообразующие бактерии. Бактериальные клетки пробиотика, которые могут распространяться как биокатализаторы многих жизненно важных процессов в пищеварительном тракте, активно продуцируют ферменты, аминокислоты, витамины, антибиотические вещества и другие физиологически активные субстраты, дополняющие комплексное лечебно-профилактическое действие.

Биологическая активность кормовой добавки «Лиобакт» обусловлена наличием в составе препарата бифидобактерий и молочнокислых бактерий, характеризующихся антагонистической активностью по отношению к возбудителям желудочно-кишечных болезней молодняка сельскохозяйственных животных, высокой активностью роста и кислотообразования, устойчивостью к неблагоприятным факторам желудочно-кишечного тракта (низкий pH среды, желчь), относительной аэротолерантностью.

Биологические свойства пробиотической кормовой добавки Споробакт-К предназначена для использования с кормом с целью стабилизации желудочно-кишечной микрофлоры у молодняка крупного рогатого скота. Кормовая добавка обладает высокой антагонистической активностью в отношении широкого спектра патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и ферментативной активностью.

ОЛИН – пробиотик-энтеросорбент для профилактики желудочно-кишечных болезней, дисбактериозов и лечения крупного рогатого скота при

кишечных инфекциях, повышения естественной резистентности организма, увеличения сохранности животных, повышения молочной продуктивности коров, стимуляции роста и развития молодняка.

Действующим началом ОЛИН являются запатентованные штаммы спорообразующих микроорганизмов *Bacillus licheniformis* (ВКПМ В-10135) и *Bacillus subtilis* (ВКПМ В-10172) в соотношении 1:1.

Пробиотическая кормовая добавка ОЛИН обеспечивает:

- повышение естественной резистентности организма, восстановление микробиоценоза кишечника и снижение риска инфекционных заболеваний животных вследствие четко выраженной антагонистической активности к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (профилактика и лечение дисбактериоза, энтерита, сальмонеллеза, колибактериоза и др.). При этом заболевания желудочно-кишечного тракта либо полностью купируются, либо протекают в более мягкой форме и в более короткие сроки;

- быстрое восстановление напряженности иммунитета и баланса полезной микрофлоры кишечника, в том числе локализацию поствакцинального стресса и коррекцию последствий применения антибиотиков при лечении легочных инфекций;

- локализацию кормовых стрессов при изменении питательности и структуры рационов;

- существенное улучшение конверсии корма за счет стимуляции и непосредственно синтеза в кишечнике пищеварительных ферментов: пектолитическая активность препарата составляет 0,2-0,6 ед./мл, общая протеолитическая активность 5-8 ед./мл, амилазная активность 18-23 ед./мл, липазная 120-180 мкмоль ОК/мл. ч;

- продуцирование витаминов группы В и аминокислот, в том числе незаменимых (мг/л): лизин - до 19, гистидин - до 130, валин – до 620, треонин – до 90, тирозин – до 160, аланин до 350 и т.д.;

- снятие технологических стрессов при скученном содержании, повы-

шенной температуре, перегруппировке, отъеме, вакцинации, перевозке животных и др.

Отличие ОЛИН от «молочно-кислых пробиотиков» в том, что ОЛИН - это споровый препарат с высоким уровнем антагонистической активности к широкому спектру патогенных и условно патогенных возбудителей инфекционных заболеваний. Споры бактерий *B.subtilis* и *B.licheniformis*, входящие в состав пробиотика ОЛИН, жизнеспособными преодолевают кислую среду желудка и, попадая в тонкий и толстый кишечник, прорастают в вегетативную форму, где активно выделяют большое количество пищеварительных ферментов, чем способствуют более полному расщеплению и существенному улучшению переваривания корма. Одновременно проросшие споры вступают в конкуренцию за питательные субстраты с патогенной микрофлорой и вытесняют её из кишечника, повышая тем самым иммунный статус животного и его защитный барьер от инфекций. Другое немаловажное преимущество пробиотика ОЛИН в том, что он по своим свойствам заменяет кормовые антибиотики, но при этом, в отличие от антибиотиков, абсолютно безвреден, не вызывает дисбактериоз и лекарственную устойчивость. Поэтому только ОЛИН из бактерий рода *B.subtilis* и *B.licheniformis* способен эффективно восстанавливать нормобиоценоз кишечника.

Применение ОЛИН с первых дней жизни телят и в дальнейшем для профилактики не только позволяет решить проблему кишечных расстройств у телят, но экономически эффективно оправдано.

Представленные выше данные однозначно свидетельствуют, что пробиотики-энтеросорбенты оказывают многообразное действие как на микрофлору желудочно-кишечного тракта, так и на обменные функции организма животных, а пробиотический эффект различных бактерий определяется суммой специфических активностей, которыми эти микроорганизмы обладают.

1.5. Заключение по обзору литературы

В последние годы в РФ и за рубежом активизировались научные исследования по созданию, производственным испытаниям и внедрению в ветеринарную практику пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* и энтеросорбентов-природных цеолитов.

Комбинация энтеросорбента и пробиотика является патогенетическим подходом к профилактике и лечению крупного рогатого скота при желудочно-кишечных болезнях.

Достоинством сорбционных форм пробиотиков и пробиотических кормовых добавок является объединение микроорганизмов в микроколонии, которые фиксируются на специальном сорбенте-носителе. Десорбция микроорганизмов происходит уже в толстой кишке, где они и реализуют свое действие. Благодаря такому строению, за счет химических и электростатических сил увеличивается взаимодействие бактерий с пристеночным слоем слизистой оболочки кишечника и возрастает их антагонистическая активность. Повышается выживаемость пробиотических штаммов бактерий при прохождении через кислую среду желудка, создаются высокие локальные их концентрации на поверхности слизистой кишечника. Сорбенты-носители адсорбируют и выводят из организма эндо- и экзотоксины, патогенные бактерии и продукты их метаболизма, что способствует ускорению репаративного процесса в слизистой оболочке кишечника. Перечисленные особенности сорбционных форм пробиотиков способствуют более быстрому заселению кишечника содержащимися в них бактериями по сравнению с сухими лиофилизированными формами пробиотиков.

Пробиотические препараты целесообразнее применять с превентивной целью для сохранения здоровья и стимуляции роста, развития животных и для получения экологически безопасной и качественной продукции.

Животноводы стараются подобрать для своего поголовья недорогие, но эффективные препараты. В настоящее время ассортимент пробиотиков-

энтеросорбентов достаточно обширный. Но большая его часть представлена импортными дорогими кормовыми добавками, применение которых экономически нецелесообразно.

Поэтому возникает необходимость в создании, определении антимикробной активности, оценке лечебно-профилактической эффективности и внедрению в животноводство России новых пробиотиков-энтеросорбентов на основе отечественного сырья.

ГЛАВА 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа была выполнена в 2014-2018 гг. на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина.

Пробиотик-энтеросорбент Сорболин, а также его компоненты (Хотимский трепел, культуры штаммов *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135, наполнитель лактоза от разных производителей) были нам предоставлены разработчиком препарата - ООО «Пробиотик-Плюс», г. Москва.

Сорболин представляет собой порошок серого цвета, растворимый в воде, молоке и молозиве с образованием мелкодисперсного осадка.

Сорболин выпускают расфасованным по 1,0; 3,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 и 100,0 г в полимерные или стеклянные флаконы, закупоренные крышками с контролем первого вскрытия или резиновыми пробками, обкатанными алюминиевыми колпачками, или по 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 и 20,0 кг в пакеты из полимерных комбинированных водонепроницаемых материалов или в бумажные многослойные мешки с пластиковым вкладышем.

Хранят Сорболин при температуре от минус 25 °С до плюс 25 °С, срок хранения - 24 месяца с даты изготовления при соблюдении условий хранения и транспортирования.

Для изучения использовали Хотимский трепел ископаемый нативный, и обработанный на предприятии ОДО «Трепел-М», Республика Беларусь (просеянный и с разной степенью помола).

Изучение антимикробных и биологических свойств компонентов Сорболина, а также эксперименты на лабораторных животных проводили в лаборатории и в виварии кафедры микробиологии.

Химический анализ компонентов и изучение физико-химических свойств Сорболина провели в ОДО «Трепел-М» (Республика Беларусь).

Кокцидии, выделенные из кишечника телят, изучали на кафедре парази-

тологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина.

Исследования по определению эффективности Сорболина при сальмонеллезе и эймериозе телят проводили на базе ООО «Правда», Истринского района, Московской обл. и в АО «Холдинговая компания – агрофирма «Россия» Тимашевского района Краснодарского края.

Производственные испытания Сорболина при микотоксикозах коров и телят проводили в ОАО Агрофирма «Дмитрова гора», Конаковского района, Тверской обл.

Микроорганизмы. Штаммы *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135, входящие в состав Сорболина, были получены нами от ООО «Пробиотик-Плюс», а также из коллекции ВКПМ, где они депонированы и находятся на хранении.

В лиофилизированном виде и в виде суспензий культуры пробиотических штаммов бацилл получали с ООО «Восток», Кировской обл., где производится пробиотическая кормовая добавка ОЛИН на основе этих штаммов.

Для изучения биологических свойств культур бацилл, их пересекали и культивировали в МПБ и на МПА.

Для определения антагонистической активности бактерий-компонентов Сорболина были использованы культуры *E.coli*, *S.dublin*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *K.pneumonia*, *P.vulgaris*, *C.albicans*, *A. niger*, полученные из рабочей коллекции штаммов кафедры микробиологии ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина.

Экспериментальные животные. Для определения острой и хронической токсичности Сорболина проводили исследования с использованием белых беспородных крыс-самцов массой 170-235 г; белых беспородных мышей массой 18-22 г; морских свинок-самцов массой 300-360 г, кроликов породы шиншилла весом 2500 кг, коз заанненской породы в возрасте 12 мес.

Лабораторных животных содержали в клетках, коз – в изолированном помещении в виварии кафедры микробиологии.

Мышей и крыс кормили комбикормом по ГОСТ Р 51849-2011 Р.5, кроликов – стандартным гранулированным зеленым кормом, коз сеном и овсом.

Выбор доз, кратности и методов введения Сорболина определяли в соответствии с Руководством по экспериментальному [доклиническому] изучению новых фармакологических веществ [70] и Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [71].

Лечебно-профилактическую эффективность Сорболина определяли на 90 телятах черно-пестрой голштинизированной породы в возрасте 2-3 дней; 40 телятах в возрасте 15-30 дней; 60 телятах в возрасте 3-4 мес., 50 коровах дойного стада.

Материалы, питательные среды, растворы, реактивы. В процессе работы было отобрано и исследовано 20 проб Хотимского трепела, 87 проб кормов, пораженных плесневыми грибами, 60 проб фекалий от телят.

Для выделения и идентификации микроорганизмов использовали такие питательные среды, как МПА, МПБ, МРС-2, Эндо, Плоскирева, Блаурокка, Сабуро, Клиглера, солевой агар, висмут-сульфит агар, желточно-солевой агар, кровяной агар, селенитовый бульон.

Оборудование. При изучении физико-химических свойств Хотимского трепела в сравнительном аспекте, использовали прибор синхронного термического анализа дериватограф NETZSCH STA409 EP/2 – измерительный комплекс, который позволяет проводить дифференциально-термический (ДТА) и термогравиметрический (ТГА) анализ различных твердых и жидких веществ. Данные дериватографа регистрировали по изменению массы вещества и тепловым эффектам при нагреве.

Спектр поглощения/пропускания изучаемых субстратов регистрировали с помощью Инфракрасного Фурье-спектрометра «ИнфраЛЮМ ФТ-02» в средней инфракрасной области: в диапазоне от 400 до 7500 см⁻¹ (25-1,3 мкм) при спектральном разрешении 1; 2; 4; 8; 16 см⁻¹ (рис. 2).

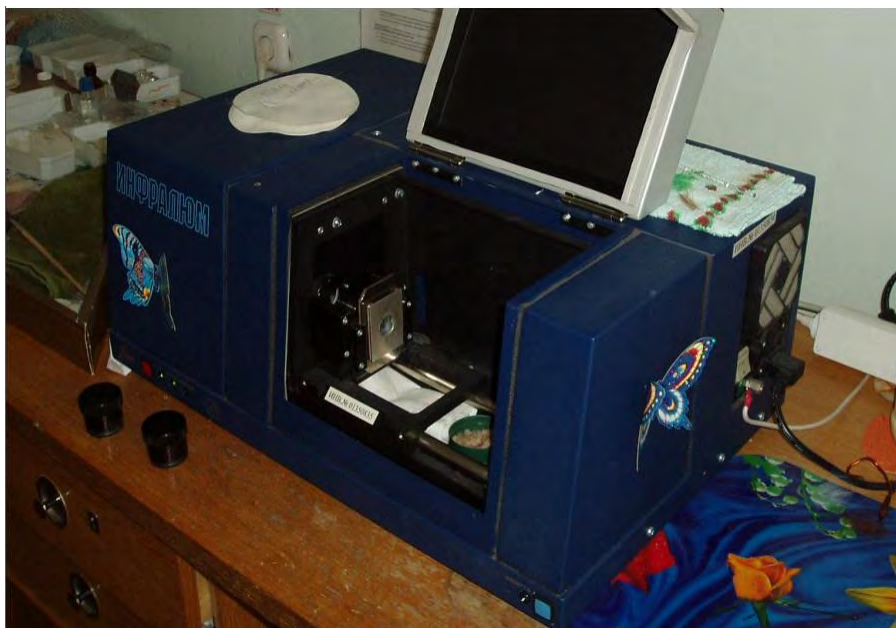


Рисунок 2 - Инфракрасный Фурье-спектрометр «ИнфраЛЮМ ФТ-02»

При изучении состава трепела пользовались микроскопом AxioImager с системой документирования (рис. 3).



Рисунок 3 - Микроскоп AxioImager с системой документирования

Для приготовления опытной партии Сорболина использовали лиофильно высушенную биомассу культур штаммов *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135, которые получали с биопредпри-

ятия ООО «Восток», Омутнинского района Кировской обл. Биомассу бацилл смешивали с Хотимским трепелом и лактозой в смесителе для сыпучих веществ МР-500, фирмы Meunpol (Польша).

Выращивание культур пробиотических штаммов *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135 проводили в бактериологических матрацах на плотной среде Гаузе № 2.

Методы исследований. В работе были использованы бактериологический, биологический, гематологический, иммунологический, биохимический методы; ИК-спектроскопия, оптическая микроскопия.

Исследование физико-химических и биологических свойств Хотимского трепела проводили по методам, описанным Голушко В.М., Козинец А.И. и Максе Л.П. [35, 36, 40].

Показатель адсорбции и емкости катионного обмена Хотимского трепела устанавливали по поглощению красителя метиленового голубого в соответствии с ГОСТ 21283-93.

Показатель адсорбции Хотимского трепела (A), мг/г, вычисляли по формуле:

$$A = \frac{C \cdot V}{m_3},$$

где C - концентрация раствора метиленового голубого, мг/см³;

V - объем раствора метиленового голубого, израсходованный на титрование, мл;

m_3 - масса навески Хотимского трепела, г.

Емкость катионного обмена Хотимского трепела (E), мг-экв на 100 г сухой массы вычисляли по формуле:

$$E = \frac{A}{319,9} \cdot 100,$$

где A - показатель адсорбции, мг/г;

319,9 - миллиграмм-эквивалентная масса метиленового голубого, мг.

Все исследования повторяли в трехкратной повторности в трех параллельных опытах.

Количество бацилл в 1 г препарата определяли методом десятикратных разведений, который был усовершенствован в процессе работы.

Антимикробную активность бацилл-компонентов Сорболина определяли по методикам, описанным в СТО 84120471-0005-2017 «Сорболин, технические условия», а также в Государственной Фармакопее ГФ XIII [2005].

Для определения противопаразитарной активности Сорболина использовали культуру эймерий, выделенную от больных эймериозом телят.

Бактериологические исследования фекалий животных проводили согласно «Методическим рекомендациям по выделению и идентификации условно-патогенных энтеробактерий и сальмонелл при острых кишечных заболеваниях молодняка сельскохозяйственных животных» [2003].

Эффективность Сорболина оценивали в контролируемых опытах на телятах и коровах дойного стада. Учитывали заболеваемость сальмонеллезом, микотоксикозами и эймериозом, общую сохранность, прирост живой массы. Результаты клинических испытаний подтверждали данными бактериологических исследований микрофлоры желудочно-кишечного тракта и лабораторными анализами крови и сыворотки крови по гематологическим, биохимическим и иммунологическим показателям.

Для выделения микроорганизмов из желудочно-кишечного тракта животных использовали общеупотребительные, дифференциально-диагностические и селективные среды. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с использованием серологических, а также биохимических методов, включающих применение систем индикаторных бумажных.

Патогенные свойства выделенных от больных животных микроорганизмов изучали на белых мышах массой 18-20 г, путем внутрибрюшинного заражения суточной культурой в дозе 500 млн. м. к.

Для определения профилактической дозы Сорболина были созданы опытные и контрольные группы телят, которых содержали в одинаковых

условиях и давали одинаковый рацион кормления.

Телятам опытных групп, общей численностью 30 голов, давали Сорболин с кормом в различных дозах; телята контрольных групп, в количестве 30 голов, получали антибиотики или не получали никаких препаратов.

За телятами опытных и контрольных групп вели ежедневные клинические наблюдения. Учитывали общее состояние организма, контролировали рост, заболеваемость и сохранность поголовья.

У телят опытных и контрольных групп определяли количественный и качественный состав кишечной микрофлоры через 3 и 7 сут с начала постановки опыта. От телят брали кровь для определения уровня сывороточных иммуноглобулинов и для гематологических исследований, которые проводили в трехкратной повторности.

Экспериментальные данные обрабатывали методом корреляционного, вариационного и факторного статистического анализа с использованием пакета компьютерных программ «Statgraphics Plusfor Windous» и «Statistica 6,0».

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1. Определение антимикробной активности компонентов пробиотика - энтеросорбента Сорболин, изучение их химического состава, физико-химических и биологических свойств

При подборе наиболее активных и безвредных компонентов в состав пробиотика - энтеросорбента Сорболин были проведены изыскания по литературным источникам и результатам исследований отечественных и зарубежных авторов.

В результате этих исследований разработчики препарата Сорболин (ООО «Пробиотик-Плюс») остановили свой выбор на Хотимском трепеле, обладающем сорбционными свойствами; штаммах бацилл *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135, входящих в состав пробиотической кормовой добавки ОЛИН, и наполнителе лактозе.

При оценке антимикробной активности и безвредности компонентов Сорболина вначале были проведены исследования по изучению физико-химических и биологических свойств компонентов препарата.

2.2.1.1. Результаты изучения свойств Хотимского трепела

Хотимский трепел - полиминеральная порода, добываемая на месторождении «Стальное» Хотимского района Могилевской области, Республика Беларусь (рис. 4).



Рисунок 4 - Внешний вид Хотимского трепела

Трепел месторождения «Стальное» Могилевской области представлен тонкодисперсной полиминеральной системой, состоящей из глины (монтмориллонит – 10 %), карбоната кальция (кальцит – 35 %), кремнезема (опал-кристобалит – 30 %) и цеолита (клиноптилолит – 15 %) и относится к цеолитам.

С учетом того, что в РФ имеется несколько крупных месторождений цеолитов, вначале мы изучили в сравнительном аспекте кривые гравиметрии Хотимского и Брянского трепелов, а также Хакасского бентонита (рис. 5).

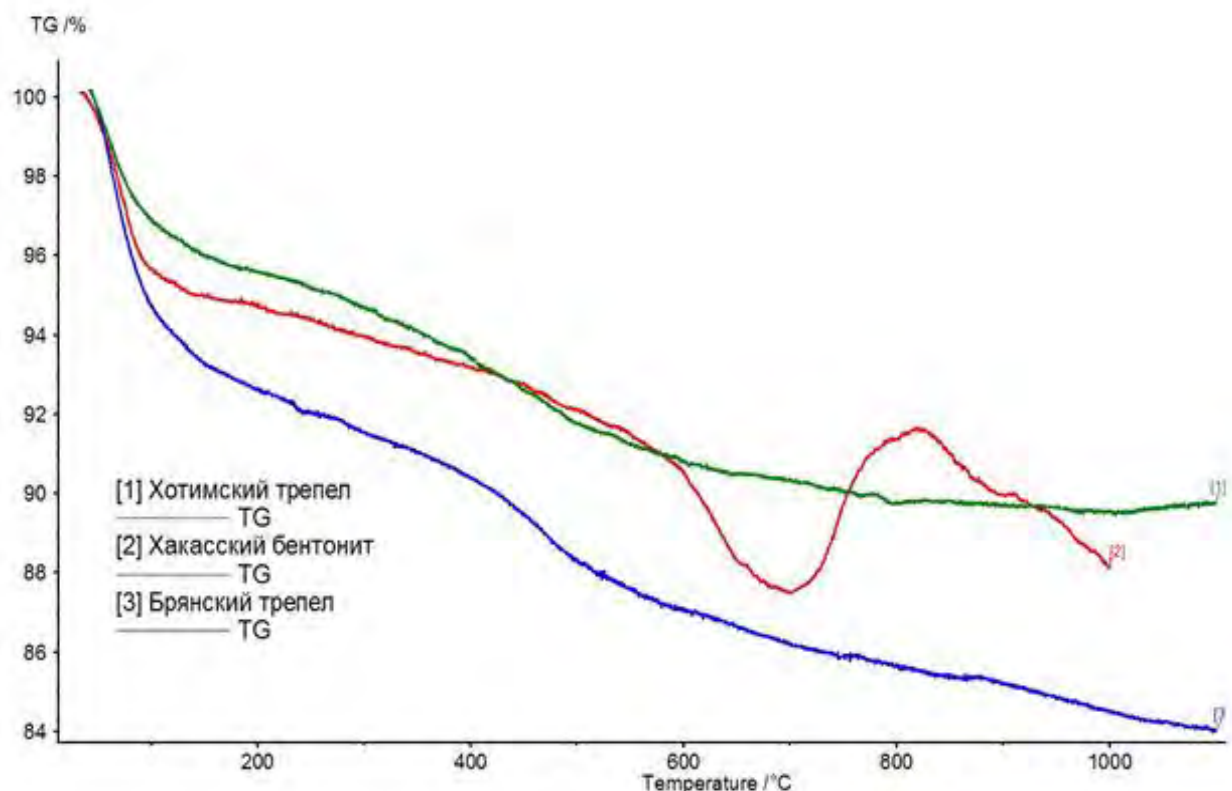


Рисунок 5 - Дифференциальные кривые гравиметрии проб трепелов [1, 3] и бентонита [2]

Как следует из рис. 5, трепелы и бентонит имеют разный состав, т.к. показатели изменения массы вещества и тепловые эффекты при нагреве у исследуемых ископаемых отличались.

Хотимский трепел оказался наиболее стабильным и устойчивым при нагревании, и по этим показателям был более перспективен для применения в составе пробиотика-энтеросорбента, т.к. показатель стабильности является

основным при определении срока годности компонента в составе препарата.

Ископаемый, не обработанный трепел содержал в своем составе споровые формы почвенных бактерий-сапрофитов. После просеивания и помола трепела на биопредприятии концентрация почвенных бактерий снижалась в 10-15 раз или встречались единичные микроорганизмы.

Также нами была изучена база данных о составе и физико-химических свойствах как цеолитов из природных месторождений, так и компонентов цеолитов, используемых в различных лекарственных препаратах, применяемых в качестве энтеросорбентов, любезно предоставленная Максе Л.П. - заведующей лабораторией ИК-спектроскопии ресурсного центра УО «Могилевский государственный университет им. А.А.Кулешова» (рис. 6, 7).

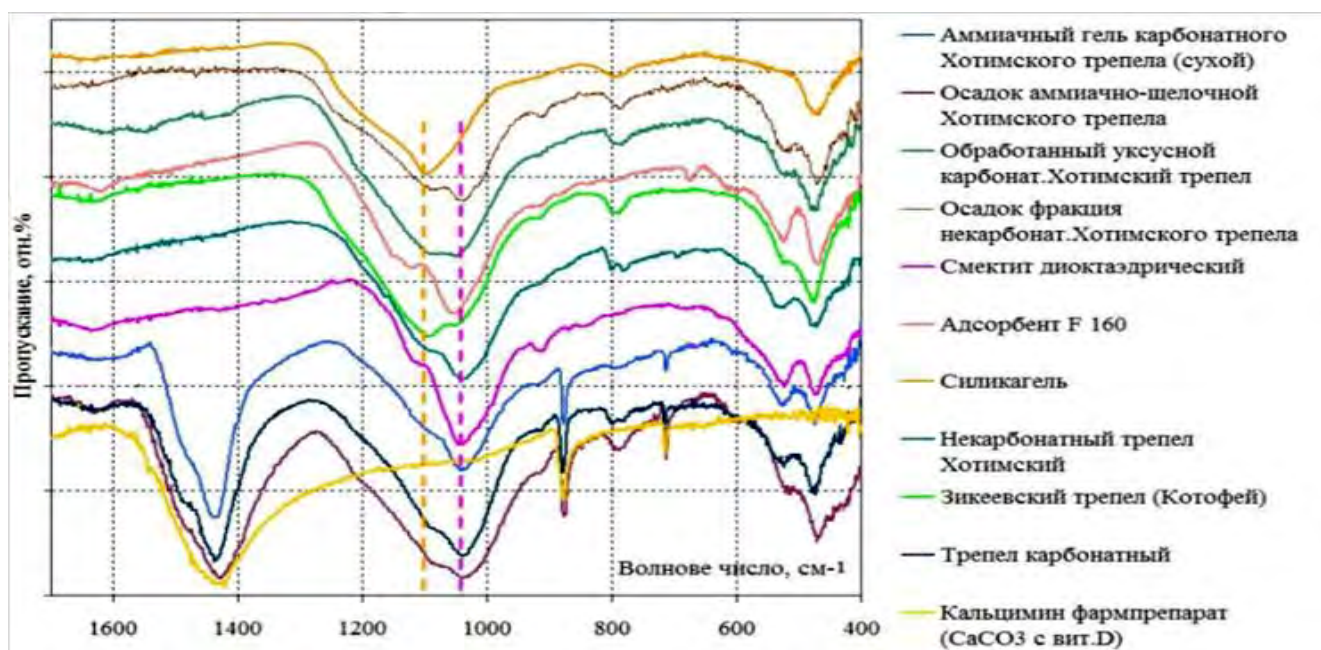


Рисунок 6 - База данных ИК-спектров цеолитов различного состава и происхождения, минералов и веществ эталонов

Как следует из рис. 6 и 7 у Хотимского трепела ИК-спектр наиболее близок к смектину, а Зикеевский трепел – к силикагелю.

Смектин является основой медицинского препарата «Смекта», широко применяемого при патологиях пищеварительного тракта детей, и обладает высокой лечебно-профилактической эффективностью.

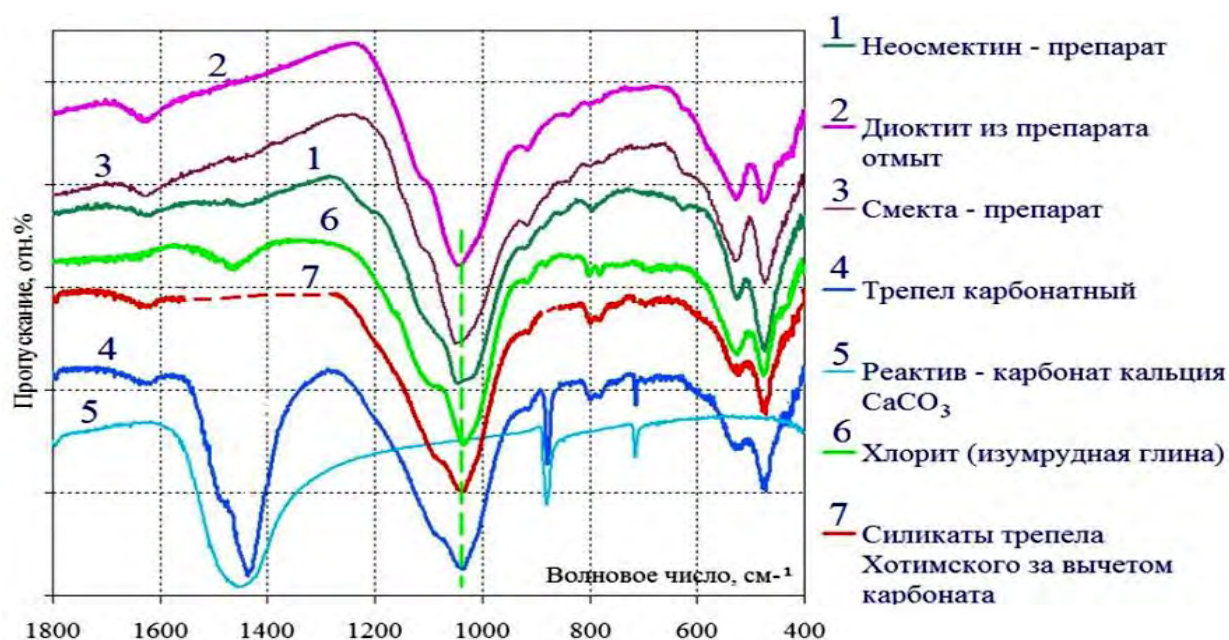


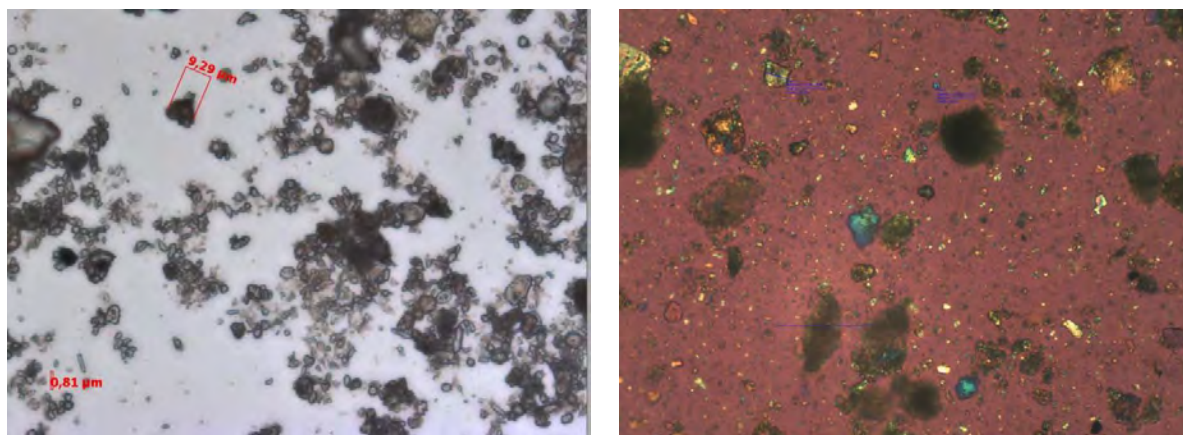
Рисунок 7 - ИК-спектры сравнительного анализа: трепела и фармацевтических препаратов

При изучении химического состава Хотимского трепела было установлено, что данный цеолит содержит широкий спектр микро- и макроэлементов [более 40], жизненно важных для животных, в нем отсутствуют вредные субстраты и химические элементы, а такие вещества, как мышьяк и свинец содержатся в незначительных концентрациях (следы), соотносимых с общим фоном почвы (табл. 2).

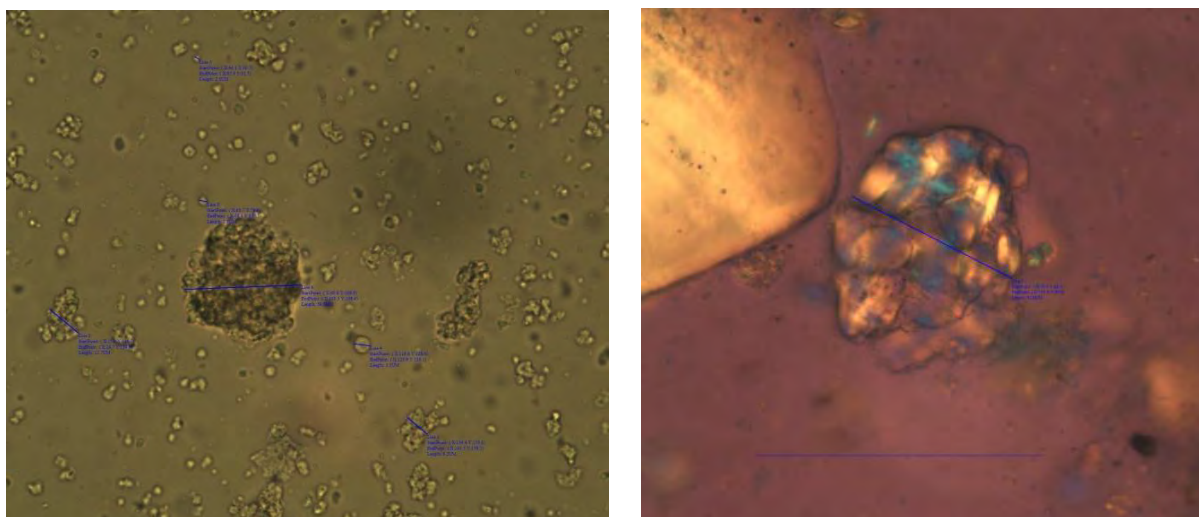
Таблица 2 - Химический состав Хотимского трепела

Химический элемент	Содержание в 1 кг сухого вещества, г	Химический элемент	Содержание в 1 кг сухого вещества, г
Кальций	150±3	Цинк	0,797±0,003
Фосфор	0,9±0,05	Марганец	3,988±0,008
Железо	8,75±0,3	Кобальт	0,042±0,001
Магний	2,42±0,02	Фтор	1,000±0,005
Калий	7,15±0,04	Мышьяк	0,066±0,008
Натрий	2,07±0,01	Свинец	0,031± 0,006
Медь	0,771±0,005	Кадмий	0,011±0,001

Использование микроскопии в поляризованном свете позволило выявить наличие в трепеле минерала из группы смектитов, полезного для работы желудочно-кишечного тракта животных (рис. 8).



а)



б)

Рисунок 8- Наличие смектитов диоктаэдрических в Хотимском трепеле
параметры микроскопии в поляризованном свете:

а) StartPoint: [X:146.4 Y:66.1]; EndPoint: [X:167.8 Y:71.9]; Length: 22.2UM;

б) StartPoint: [X:74.9 Y:66.3]; EndPoint: [X:130.6 Y:94.8]; Length: 62.6UM

По данным медицинских источников, наличие смектитов в лекарственных препаратах обуславливает их пролонгирующее действие, основанное на способности организма к более полному усвоению питательных веществ на протяжении всего пищеварительного тракта. Следовательно, Хотимский трепел, имеющий в своем составе смектиты, также может обладать подобным действием на организм животных. При этом, частицы трепела имеют размер

от 0,81 до 9,29 μm , что является одним из показателей его высокой сорбирующей способности (рис. 9).

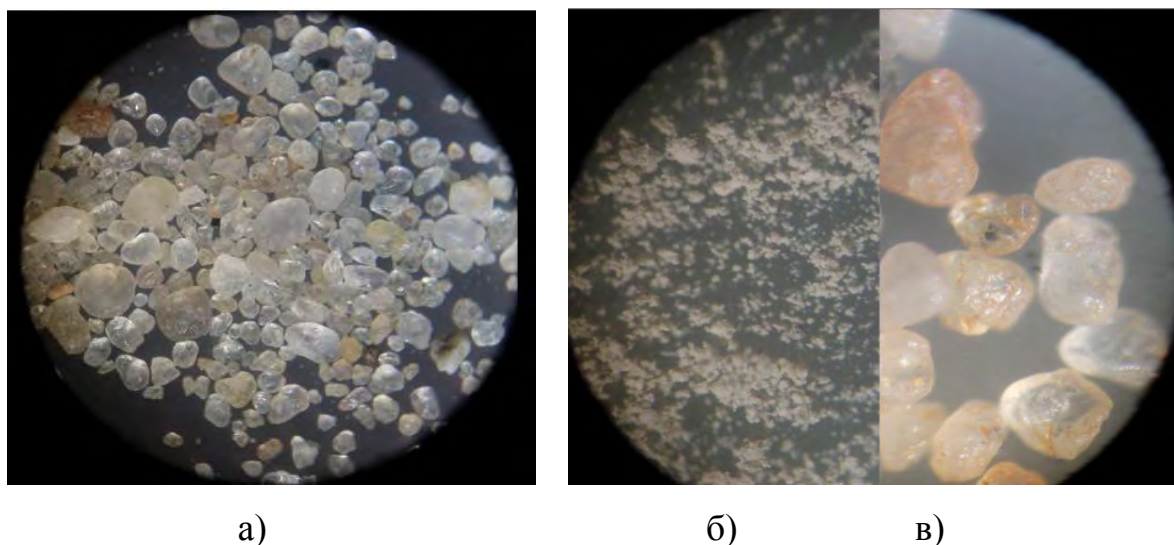


Рисунок 9 - Частицы кварцевого песка (а, в) и трепела (б), ув. 200

В трепеле взаимно и равномерно распределены на молекулярном уровне несколько минералов: аморфный кремнезем, смектит, слюда, цеолит, карбонат кальция, являющиеся источником микро-макроэлементов для животных (рис. 10).

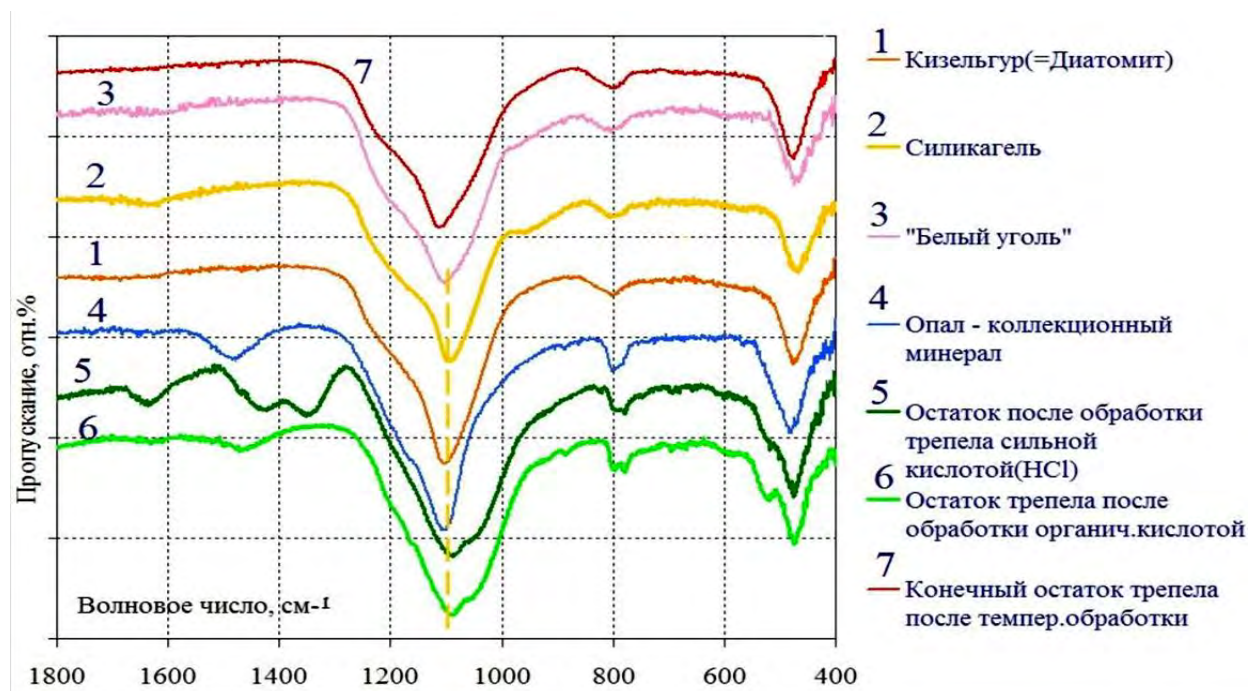


Рисунок 10 - ИК спектры сравнительного анализа аморфных кремнеземов и силикатов трепела

Свободное распускание породы в воде – характерное свойство минерала монтмориллонита, которое используется для его обнаружения в цеолитах.

Монтмориллонит (наноглина) - глинистый минерал, относящийся к подклассу слоистых силикатов, основной компонент бентонита. Данный минерал обладает способностью к сильному набуханию в воде благодаря своему строению и имеет ярко выраженные сорбционные свойства. Широко используется в строительстве, нефтегазовой отрасли, в пищевой и фармацевтической промышленности, в косметике.

Если трепел содержит данный минерал, то он будет способен к самораспусканию в воде, т.е. конкурентно впитывать воду и все растворенные в ней вещества и взвешенные частицы.

Для изучения самораспускания трепела Хотимского использовали метод отмучивания.

Для этого брали пробу трепела и растертой плющеной пшеницы и помещали на гидрофобную поверхность тонким слоем, как показано на рис. 11.



а)



б)

в)

Рисунок 11 - «Конкуренция» при смачивании водой крупки трепела и растертой плющеной пшеницы

(а – до начала постановки опыта; б - через 1 мин; в – через 5 мин)

На границу соприкосновения трепела и пшеничной муки наносили из шприца дистиллированную воду и наблюдали в течение нескольких минут, как вода поглощалась преимущественно трепелом.

Таким образом, было доказано, что трепел быстро поглощает воду, вступая в конкуренцию с различными пористыми веществами, а его особенностью является наличие в составе минерала монтмориллонита, обладающего «сильными» сорбирующими свойствами.

Показатель адсорбции и емкости катионного обмена Хотимского трепела устанавливали по поглощению красителя метиленового голубого.

Для этого, готовили раствор метиленового голубого в концентрации 0,003%.

Высушенную навеску Хотимского трепела массой 0,3 г разводили в 25 мл дистиллированной воды и кипятили в течение 2 мин, затем охлаждали и добавляли 1 мл раствора серной кислоты (5 моль/дм³). Проводили титрование смеси раствором метиленового голубого, приливая через каждые 20 с по

1 мл раствора красителя.

После добавления каждой порции красителя содержимое колбы перемешивали и тонкой стеклянной палочкой наносили каплю суспензии на фильтр «синяя лента». Пока в суспензии нет свободного красителя, на фильтре остается пятно окрашенных частиц. Как только в суспензии появляется избыток красителя, вокруг темного пятна капли на фильтре обнаруживается голубой ореол.

Содержимое колбы перемешивали еще 2 мин и вновь наносили каплю суспензии на фильтр. Если через 2 мин голубой ореол исчезал, титрование продолжали. Титрование заканчивали, если голубой ореол вокруг капли не исчезал после 2-минутного перемешивания. Отмечали объем раствора метиленового голубого, израсходованный на титрование.

Было установлено, что показатель адсорбции Хотимского трепела составляет 0,8 мг/г, активная площадь адсорбции - 43,3 м²/г, объем пор - 0,104633 мл/г, средняя ширина пор - 9,76488 нм., а емкость катионного обмена – 2,3 мг-экв/г массы.

На рис. 12 представлены наглядные эксперименты, которые показали способность трепела к полиминеральной сорбции метиленового голубого и других веществ.

Обозначения номеров пробирок на рис. 12:

- 1 – трепел+молочная кислота;
- 2 - трепел+аммиак;
- 3 – трепел+метиленовый голубой;
- 4 – силикагель+вода;
- 5 - трепел+вода.



1

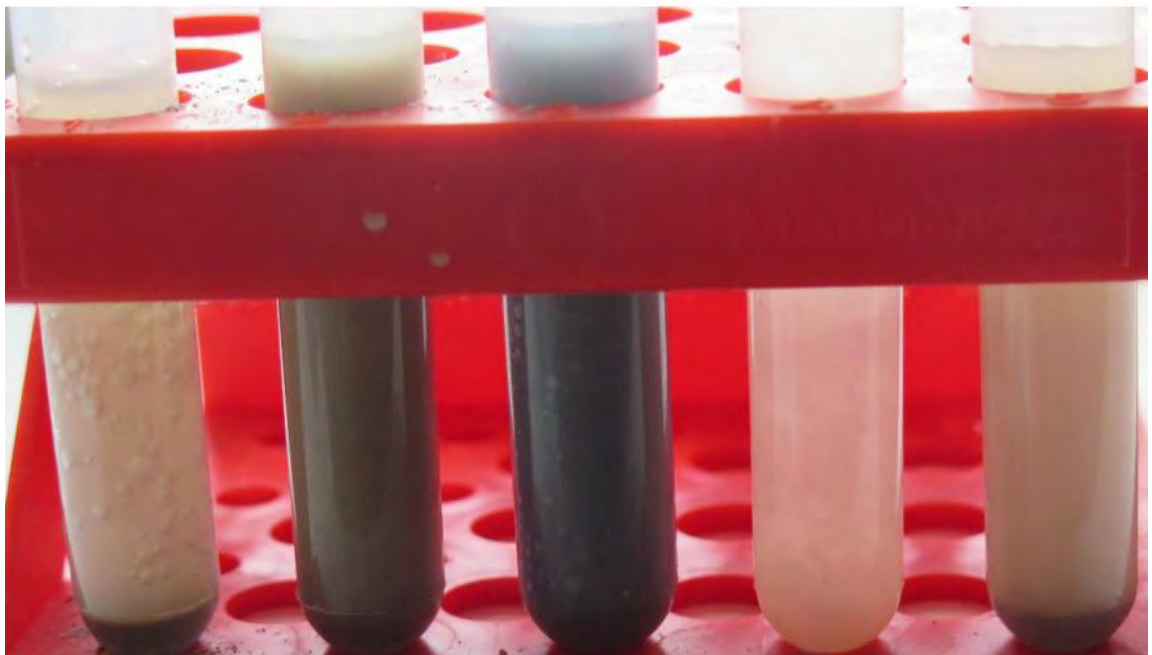
2

3

4

5

a)



1

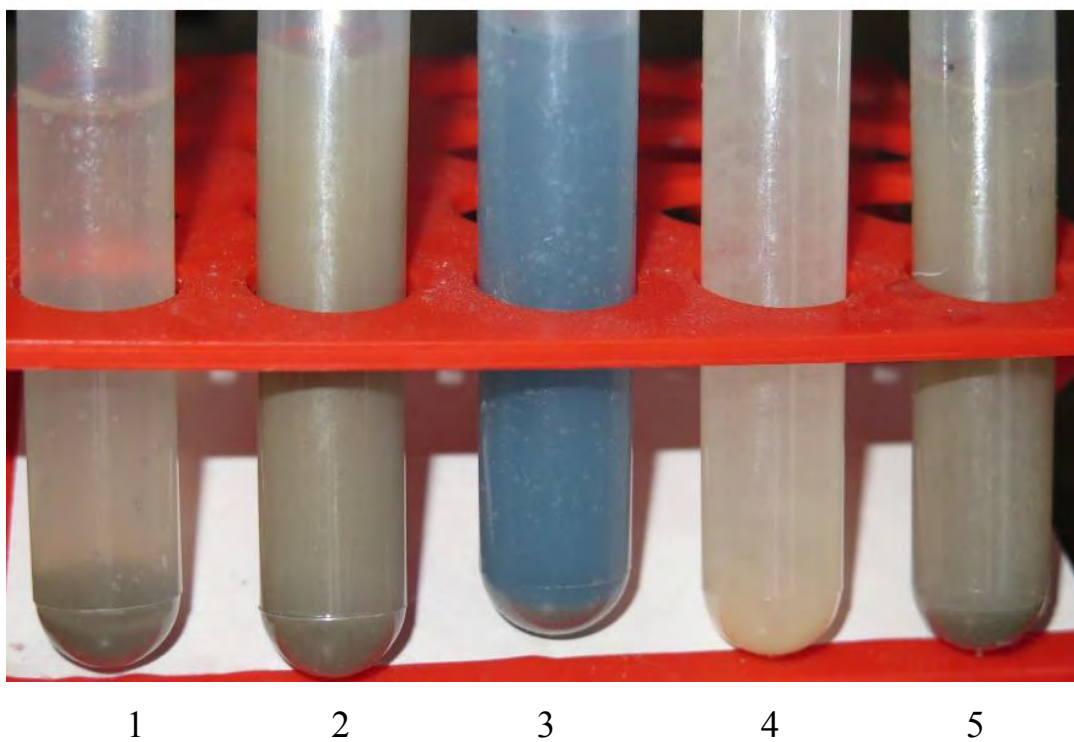
2

3

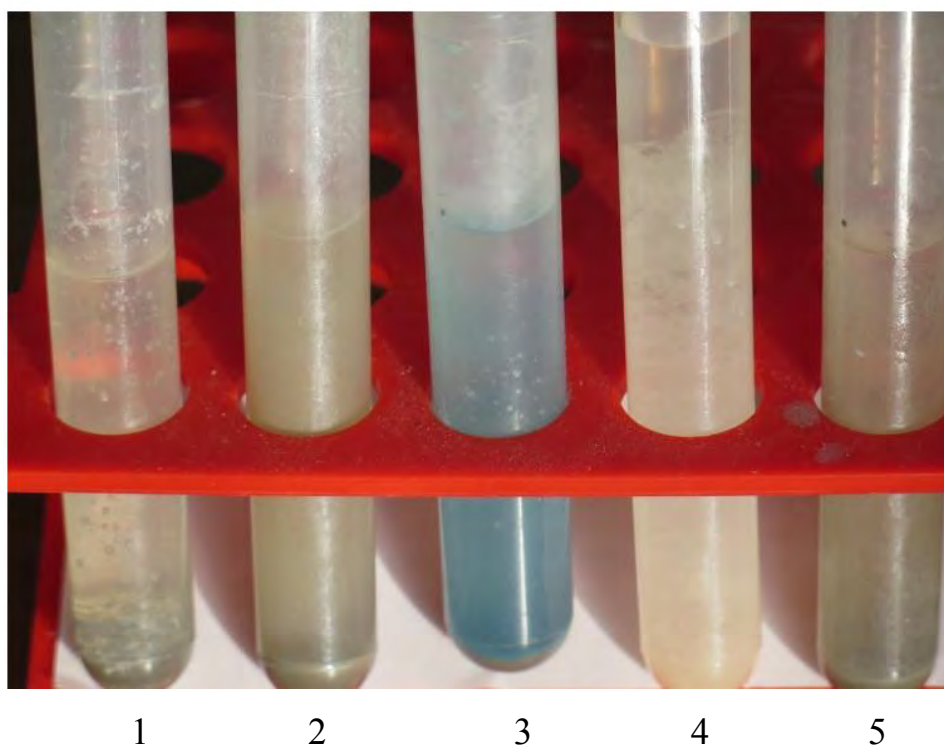
4

5

б)



в)



г)

**Рисунок 12 - Полиминеральная сорбционная активность
Хотимского трепела**
(а – через 1 мин, б – 5 мин, в – 10 мин, г – 15 мин)

Как видно из рис. 12, Хотимский трепел сорбировал из водных растворов органические кислоты, газы, органические красители, силикагель. При этом, в течение 3-5 мин водные растворы трепела с сорбированными веществами превращались в гелеобразное состояние и удерживали адсорбированные вещества.

Известно, что смектиты обладают способностью переходить в коллоидное состояние. Поэтому, Хотимский трепел, содержащий смектиты, с водой образует коллоидную фазу и значительно увеличивает ее долю и устойчивость в щелочной среде (например, аммиачной – пробирка 2), что является уникальной особенностью Хотимского трепела.

Нами было установлено, что высушенный аморфный кремнезем – силикагель, входящий в состав Хотимского трепела, способен возвращаться в состояние геля кремнекислоты при смачивании водой.

Для изучения водопоглощения и адсорбции органических веществ Хотимским трепелом в пробирки без дна на вату засыпали трепел и добавляли двойной объем водного раствора фуксина, суспензии дрожжей с фуксином и водного раствора метиленового голубого (рис. 13).



а)



б)

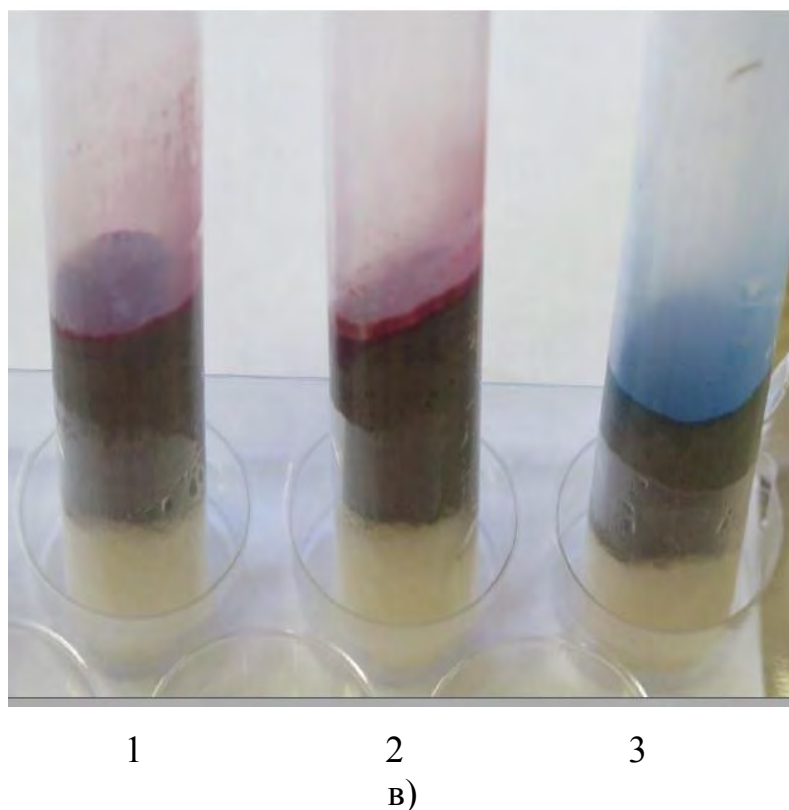


Рисунок 13 - Адсорбция органических веществ Хотимским трепелом
(а - исходный трепел на вате в пробирке без дна; б – через 3 мин с начала постановки опыта; в – через 10 мин с начала постановки опыта; 1- фуксин;
2 – дрожжевая суспензия с фуксином; 3 – метиленовый голубой)

В течение 10 мин мы наблюдали адсорбцию красителей фуксина и метиленовой сини, а затем изучали состав растворов, прошедших через слой трепела, и с помощью прибора ИнфраЛЮМ ФТ-02 регистрировали инфракрасные спектры адсорбированного осадка и фильтрата.

Было установлено, что в растворах, содержащих взвешенные компоненты трепела, питательную среду и дрожжи, жизнедеятельность микроорганизмов продолжалась, а погибшие дрожжи и часть органических веществ питательной среды адсорбировались из водного раствора поверхностью частиц трепела (верхние слои в пробирке).

Несмотря на то, что у пробирок не было дна, водные растворы не вытекали из отверстия, т.к. превращались в гелеобразное состояние.

При этом вата не окрашивалась фуксином или метиленовым голубым, т.к. эти красители полностью поглощались трепелом.

Карбонат кальция в трепеле является микроразмерным и связан с другими минералами. В форме мономинерала он не осаждается в осадок из водной дисперсной коллоидной системы, что облегчает его участие в реакциях, протекающих в желудочно-кишечном тракте животных.

Особенностью трепела Хотимского является также то, что он содержит железо в усвояемой, физиологически доступной для извлечения форме. Железо Fe^{3+} и Mg^{2+} входят в состав хлорита – слоистого минерала группы смектитов, а не в состав оксида – ржавчины.

Поэтому, в организме животных трепел способен образовывать органо-минеральный комплекс хлорит-мочевину, что объясняет свойство трепела Хотимского снижать содержание мочевины в сыворотке крови животных.

Как следует из рис. 14, инфракрасные спектры водной суспензии трепела и трепела с мочевиной, практически идентичны, что свидетельствует о полном связывании мочевины трепелом.

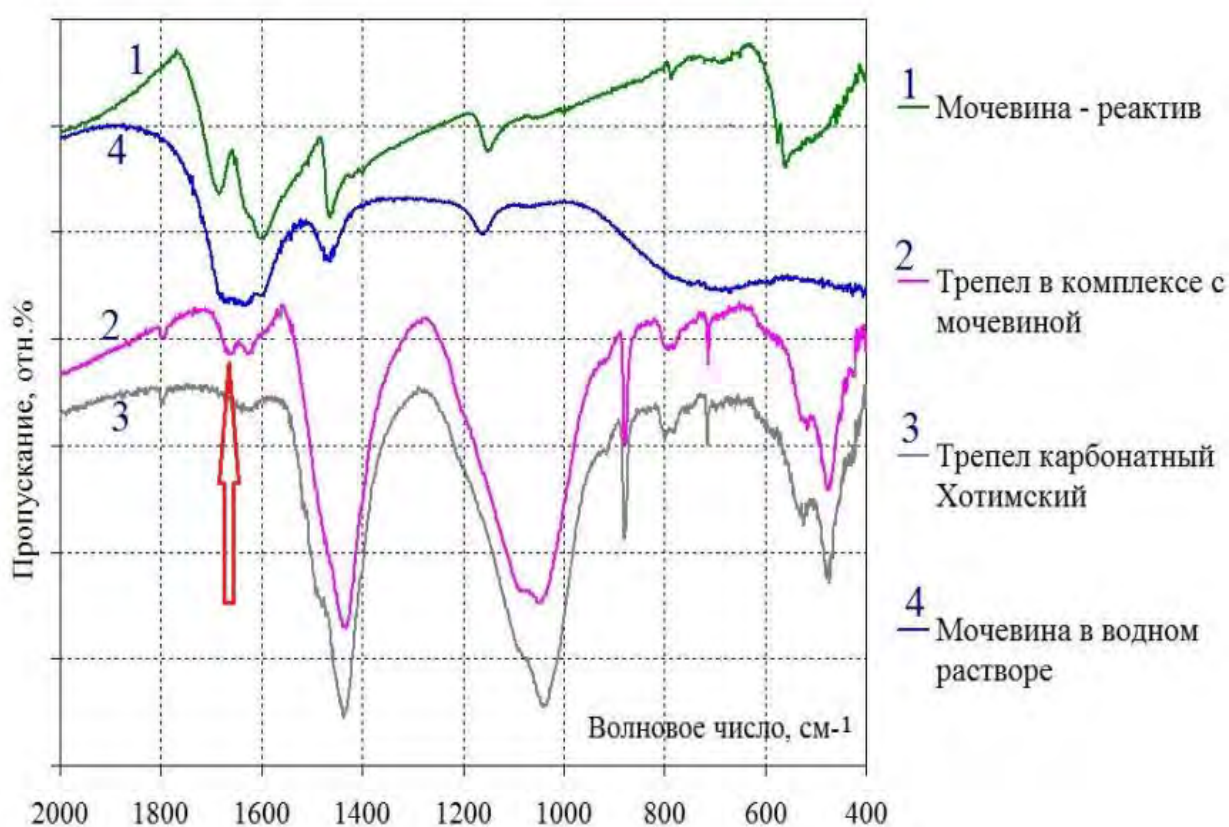


Рисунок 14 - Связывание мочевины Хотимским трепелом

Следовательно, обладая большой активной поверхностью в желудочно-кишечном тракте, трепел способен селективно адсорбировать не только аммиак, но и углекислый газ, метан, сероводород, углеводороды, воду, фенолы, экзо- и эндотоксины, тяжелые металлы, радионуклиды, гнилостные и патогенные микроорганизмы и т.д.

Проходя через желудочно-кишечный тракт, Хотимский трепел способен удалять из просвета пищеварительного тракта избыток жидкости, вредные газы, эндотоксины, благодаря чему предотвращает диарею.

Таким образом, в основе положительного действия на организм животных Хотимского трепела лежат следующие свойства: адсорбционные, ионообменные, пролонгирующее действие, пополнение рационов макро- и микроэлементами. Эти данные основаны на уникальном химическом составе и физико-химических свойствах Хотимского трепела.

Поэтому, трепел Хотимский является необходимым компонентом пробиотического препарата с энтеросорбирующим действием, т.к. захватывая с водой взвешенные в ней бактерии и грибы и сорбируя токсины, можно утверждать, что трепел обладает антимикробным и противотоксическим действием в отношении бактерий и грибов, а также синтезируемых ими токсинов как *in vivo*, так и *in vitro*.

2.2.1.2. Характеристика культур штаммов *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135

При изучении антимикробного действия второго компонента Сорболина - пробиотических штаммов культур бацилл, мы оценивали их антагонистическую активность в отношении возбудителей инфекционных болезней животных.

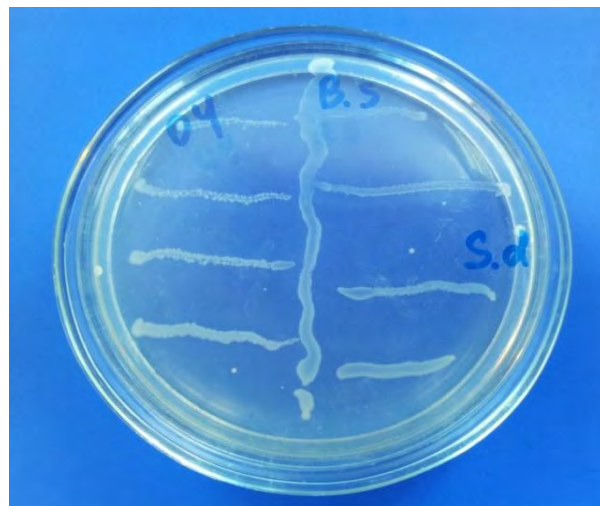
На первом этапе были проведены исследования антагонистической активности *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135, входящих в состав пробиотической кормовой добавки Олин, методом отстроченного антагонизма в отношении стафилококков и сальмонелл (рис. 15), и в сравнении

с такими широко применяемыми в скотоводстве пробиотиками, как Ветом и Бактисубтил (рис. 16, 17).

Использовали смешанную бактериальную массу бацилл в соотношении 1:1, в концентрации 1 млрд. микробных клеток каждого штамма в 1 г споровой культуры.



Staphylococcus aureus



Salmonella dublin

Рисунок 15 - Антимикробная активность бацилл-компонентов Олин [метод отстроченного антагонизма]

На рис. 15 видно, что в области роста бацилл стафилококки и сальмонеллы погибают, их рост и размножение подавляются.

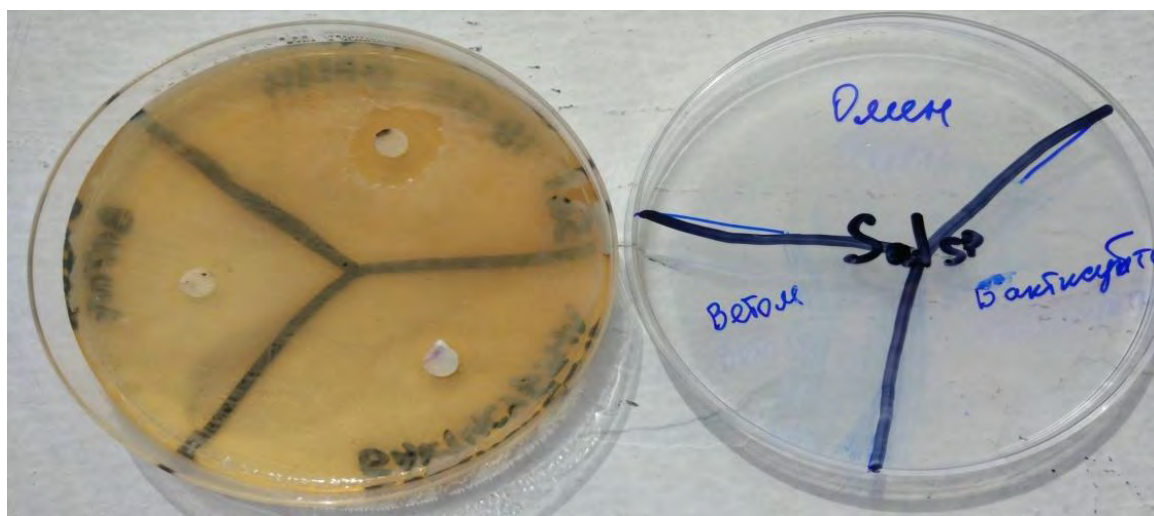


Рисунок 16 - Антагонистическая активность бактерий-компонентов пробиотических препаратов Олин, Ветом и Бактисубтил в отношении сальмонелл

Как следует из рис. 16, наибольшей антагонистической активностью из изученных препаратов обладал Олин, т.к. зона отсутствия роста сальмонелл вокруг диска, смоченного суспензией препарата, составляла более 1,0 см, у Бактисубтила – 0,2 см, а Ветом оказался неактивным и зона подавления роста сальмонелл у него отсутствовала. Аналогичная картина наблюдалась и при воздействии этих трех препаратов на *P.vulgaris* (рис. 17).



Рисунок 17 - Антагонистическая активность бактерий-компонентов пробиотических препаратов Олин, Ветом и Бактистатин в отношении энтеробактерий рода *Proteus*

Из рис. 17 видно, что в зоне Олин рост протея подавлялся, отмечался рост единичных колоний, что свидетельствует о высокой антагонистической активности бацилл.

Наиболее интенсивное размножение протея наблюдалось в зоне Ветом, характеризующее низкую активность штаммов бацилл, входящих в его состав.

На втором этапе исследований было определено антимикробное действие изучаемых бацилл в отношении эшерихий, клебсиелл, кандид и аспергил (табл. 3).

Таблица 3 - Антимикробное действие бацилл-компонентов Сорболина в отношении энтеробактерий, дрожжеподобных и плесневых грибов

Культура штамма	Зоны угнетения роста патогенных бактерий и грибов, мм			
	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumonia</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
<i>B.subtilis</i> BKПМ 10172	18±2	12±3	10±4	16±3
<i>B.licheniformis</i> BKПМ 10135	15±3	10±2	8±1	21±4

Как следует из данных табл. 3, антимикробное действие у обоих штаммов изучаемых бацилл было наиболее выраженным в отношении аспергилл и эшерихий. В отношении клебсиелл и кандид бациллы проявляли среднюю антимикробную активность.

Таблица 4 - Основные биологические свойства бацилл-компонентов Сорболина

№ n/n	Свойства	<i>B. subtilis</i> ТПИ 13	<i>B. licheniformis</i> ТПИ 11
1	Рост в анаэробных условиях	±	±
2	Ферментация глюкозы	+	+
3	Ферментация арабинозы	+	+
4	Утилизация ксилозы	+	-
5	Ферментация маннита	+	+
6	Утилизация цитрата	+	+
7	Утилизация пропионата	-	+
8	Гидролиз крахмала	+	+
9	Гидролиз мочевины	-	-
10	Редукция нитратов	+	+
11	Обесцвечивание метиленовой сини	+	+
12	Аргининдигидролазная активность	-	+
13	Лецитиназная активность	-	-
14	Гиалуронидазная активность	+	+
15	Лизоцимная активность	-	-
16	Гемолитическая активность	-	-
17	Антагонизм при совместном культивировании	-	-

При изучении биологических свойств бацилл было установлено, что изучаемые бациллы обладают типичными для этих видов свойствами, высо-

кой скоростью роста, фенотипической гетерогенностью, отсутствием факторов вирулентности, не нуждаются в аминокислотах и витаминах, не проявляют взаимного антагонизма при совместном культивировании, споры прорастают в течение 2 ч., процесс споруляции длится 4-6 ч (табл. 4).

Уникальной особенностью бацилл *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135 являлась способность обеих культур расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях, что позволяет отнести *B.subtilis* ВКПМ 10172 к факультативному аэробу, а *B.licheniformis* ВКПМ 10135 – к факультативному анаэробу.

При изучении антибиотикочувствительности изучаемых бацилл к широко применяемым в животноводстве антибиотикам было установлено, что данные бациллы обладают множественной лекарственной устойчивостью (табл. 5).

Таблица 5 - Антибиотикочувствительность культур штаммов *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135

Изучаемый препарат	Антибиотикочувствительность (диаметр зон торможения роста культуры), мм	
	<i>B.subtilis</i>	<i>B. licheniformis</i> 11
Амоксициллин	6±0,2	3±0,1
Ампициллин	0	0
Карбенициллин	8±0,1	2±0,5
Гентамицин	4±0,2	12±0,1
Канамицин	0	0
Цефазолин	7±0,3	4±0,3
Цефотаксим	12±0,1	9±0,2
Цефтазидим	8±0,3	8±0,5
Тетрациклин	0	0
Левомецетин	0	0
Неомицин	0	0
Нистатин	0	4±0,3
Пефлоксацин	0	6±0,2
Рифампицин	12±01	14±0,2
Стрептомицин	0	0
Эритромицин	0	0
Норфлоксацин	0	0

Таким образом, культуры штаммов бацилл *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135 обладают высокой антагонистической активностью и антибиотикоустойчивостью, не содержат факторы патогенности и их можно использовать в составе пробиотика-энтеросорбента Сорболин при желудочно-кишечных болезнях телят не только как альтернативу антибиотикам, но и в комплексе с антибиотиками при лечении больных животных.

2.2.1.3. Определение микробной обсемененности лактозы – наполнителя Сорболина

В качестве наполнителя Сорболина разработчик препарата использует лактозу, как наиболее оптимальный компонент по гидрофобности, энергетической ценности и имеющий приятный для животных вкус.

В последние годы техническая лактоза в России не производится и закупается в ближнем или дальнем зарубежье.

Для определения качества лактозы и выбора добросовестного производителя этого компонента Сорболина, мы закупили по 5 кг лактозы у различных коммерческих организаций, поставляющих данный углевод из Германии, Франции, Литвы и Белоруссии.

Каждую партию лактозы тщательно изучали по степени помола, определяли ее влажность и делали посев на МПА для определения микробного загрязнения препарата.

При изучении цены и качества лактозы мы установили следующее:

1. Наибольшая влажность лактозы отмечена у Белорусских производителей. При смешивании этой лактозы с трепелом и лиофилизатом бацилл наблюдалось комкование и затвердевание препарата. Положительным фактором являлись доступность, невысокая цена (55 руб за 1 кг) и отсутствие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в лактозе.

2. Лактоза из Германии была высокого качества, но стоила дороже (75 руб за 1 кг) и в результате санкций покупка и перевозка ее на территорию РФ была затруднена.

3. Лактоза из Франции была высокого качества, но стоила 85 руб за 1 кг. Тем не менее, степень помола французской лактозы была самой низкой (200 мкн), что свидетельствует о высокой растворимости данного углевода, она не комковалась и не содержала посторонних примесей и микроорганизмов. При этом, санкции на ввоз лактозы из Франции на территорию РФ не распространялись.

4. Лактоза из Литвы была наиболее дорогостоящей (90 руб за 1 кг), в ней были обнаружены условно-патогенные бактерии и споры плесневых грибов (табл. 6).

Таблица 6 - Микробная обсемененность лактозы, используемой в составе пробиотика-энтеросорбента Сорболин

Страна-производитель	Выделенные микроорганизмы	КОЕ/г
Германия	-	-
Франция	-	-
Литва	<i>B.cereus</i> <i>A. niger</i>	185±24 55±10
Белоруссия	-	-

Наличие в наполнителе пробиотического препарата патогенных бактерий является недопустимым, т.к. загрязненный микроорганизмами лекарственный препарат может стать опасным для применения.

Поэтому нами были даны рекомендации разработчику и производителю Сорболина использовать в качестве наполнителя препарата лактозу производства Франции, а каждую партию лактозы исследовать на микробную загрязненность.

2.2.2. Изучение биологических свойств Сорболина

В результате проведенных исследований мы установили, что компоненты препарата Сорболин обладают антимикробными и сорбирующими свойствами, которые могут определять высокую лечебно-профилактическую эф-

фективность препарата при бактериальных инфекциях, микозах и микотоксикозах крупного рогатого скота.

Разработчик Сорболина, с учетом наших рекомендаций, определил следующий компонентный состав препарата:

1. Лиофильно высушенные культуры штаммов *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135 в споровой форме, в соотношении 1:1 каждого штамма - $2,0 \times 10^9$ микробных клеток в 1 г Сорболина.

2. Хотимский трепел (Республика Беларусь) - 50% к объему препарата.

3. Лактоза (Франция) - 50% к объему препарата.

Для определения биологической активности бацилл-компонентов и Хотимского трепела в составе Сорболина были проведены физико-химические, химические и биологические исследования препарата на содержание в нем аминокислот, бактериоцинов, ферментов, витаминов, микро-макроэлементов и других веществ.

Данные исследования проводились на базе ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И. Скрябина, а также в лабораториях ФГБНУ ВГНКИ и ОДО «Трепел-М», Республика Беларусь в рамках договоров о научном сотрудничестве и создании научно-технической продукции (табл. 7).

Таблица 7 - Основные биологически активные вещества, синтезируемые бактериями-компонентами Сорболина, и микро-макроэлементы, входящие в состав препарата

Аминокислоты (мг/г):	Ферменты (мг/г):
1.Треонин – до 60.	1. Нитратредуктаза – до 95.
2.Глутаминовая кислота – до 523.	2. α -амилаза – до 122.
3.Аланин – до 249.	3. Пируваткиназа – до 48.
4. Валин – до 483.	4. Рибонуклеаза – до 59.
5. Тирозин – до 144.	5. Аминопептидаза – до 60.
6. Гистидин – до 107.	6. Субтилопептидаза – до 35.
7. Орнитин – до 176.	7. Целлюлаза – до 155.
8. Изолейцин – до 45.	8. Липаза – до 27.
9. Лейцин – до 70.	9. Ингибитор трипсина – до 42.
10.Фенилаланин – до 34.	10. Пектиназа – до 107.
11. Цистин – до 98.	11. Пенициллиназа(β -лактамаза) – до
12. Триптофан – до 146.	100.

Бактериоцины (мкг/г):	Другие вещества (г/л):
1. Бацилизин – до 15. 2. Субтилиин – до 65. 3. Итурин – до 22. 4. Глобицин – до 16. 5. Микосубтилиин – до 25. 6. Бациллин – до 40. 7. Эндосубтилизин – до 14. 8. Лизоцим – до 50.	1. Инозит –11,65. 2. Гипоксантин–2,05. 3. Гуанозин – 16,5. 4. Азот – 1,8. 5. Смесь органических кислот – 8,0. Поли-β-оксимасляная кислота –6,4
Витамины (мкг/г):	Микро-макроэлементы
1. В ₁ – до 50. 2. В ₂ – до 36. 3. В ₆ – до 8. 4. В ₁₂ – до 72.	1. Кальций - 9,5%. 2. Натрий – 0,26%. 3. Фосфор – 0,07%. 4. Магний – 2,42 мг/г. 5. Железо – 8,702 мг/г. 6. Медь – 0,053 мг/г. 7. Цинк – 0,344 мг/г.

Для определения антимикробной активности Сорболина *in vitro* и *in vivo* нами были получены лабораторные серии препарата.

Пробиотические культуры штаммов *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135 культивировали отдельно на МПА в микробиологических матрацах, объемом 0,1 дм³ в течение 3-6 сут при температуре 37°C.

Затем, для ускорения спорообразования бацилл, внутреннюю часть ватно-марлевых пробок матрацев смачивали скипидаром и оставляли еще на сутки в термальной комнате при температуре 37°C.

Через сутки делали смыв физраствором с поверхности среды и проводили окрашивание мазков культуры по Ожешко для определения уровня спорообразования.

Воздействие паров скипидара в течение 24 ч способствовало спорообразованию 95% бацилл.

Культуру бацилл разводили физраствором до концентрации каждого штамма 10¹² КОЕ/мл, затем смешивали в соотношении объемов 1:1 и лиофильно высушивали в поддонах.

Для получения готовой лекарственной формы Сорболина с количеством бацилл в 1 г препарата не менее 2,0x10⁹ КОЕ, 1 кг лиофильно высушенной

биомассы бацилл смешивали с 50 кг лактозы и с 50 кг Хотимского трепела.

Сорболин фасовали по 1,0 кг в пластиковые флаконы и пакеты.

Для оценки возможности использования Сорболина при производстве комбикормов для крупного рогатого скота, в комбикормовый цех ООО «АгриВолга» Ярославской обл. нами была передана опытная партия Сорболина, приготовленная в лабораторных условиях.

Сорболин использовался для получения комбикорма-гранул для телят и вносился в комбикорм из расчета 1 кг на 1 т комбикорма.

Было установлено, что комбикорм с Сорболином не зависает и не залипает в трубопроводах и на транспортерах дозирующего оборудования. Дозируется стабильно, в соответствии с технологическими нормами. Коррозия оборудования не была выявлена.

Следовательно, Сорболин можно использовать в комбикормовом производстве для получения лечебного корма для телят.

2.2.3. Разработка методов контроля качества Сорболина

Для определения качества Сорболина, в соответствии с требованиями ФГБУ ВГНКИ, были определены такие показатели, как внешний вид, цвет, запах, суммарное количество жизнеспособных *B.subtilis* ВКПМ В-10172 и *B.licheniformis* ВКПМ В-10135, соотношение количества *B.subtilis* ВКПМ В-10172 и *B.licheniformis* ВКПМ В-10135, массовая доля влаги, контаминация посторонними микроорганизмами, растворимость, безвредность в тест - дозе на белых мышах, подлинность штаммов,.

Отбор проб Сорболина для исследований проводили в соответствии с ГФ XIII, т. 1, с. 142, ОФС.1.1.0004.15.

Внешний вид определяли визуально при дневном естественном освещении и комнатной температуре, запах - органолептически.

При определении внешнего вида Сорболин рассматривали во флаконе из бесцветного стекла на белом фоне при дневном освещении или освещении

лампы дневного света. Затем вскрывали флакон, Сорболин извлекали из флакона и рассматривали на белом фоне.

Цвет препарата определяли по методике, описанной в ГФ XIII, т. 1 (ОФС.1.2.1.0006.15).

Суммарное количество жизнеспособных *B.subtilis* ВКПМ В-10172 и *B.licheniformis* ВКПМ В-10135 и соотношение количества *B.subtilis* ВКПМ В-10172 и *B.licheniformis* ВКПМ В-10135 определяли методом последовательных десятикратных разведений Сорболина в физрастворе с последующим нагреванием до 94⁰С в течение 15 мин и высевом микробной суспензии на МПА. После 24 ч инкубации при температуре 37⁰С проводили подсчет выросших колоний бацилл.

Влажность Сорболина определяли по разности массы проб до и после высушивания при температуре 60⁰С.

Определение контаминации Сорболина посторонними микроорганизмами проводили путем посева суспензии препарата на различные питательные среды для культивирования аэробов, анаэробов, дрожжевых и плесневых грибов и руководствовались ГОСТ 7218-2008. Рассчитывали среднее арифметическое значение количества посторонних микроорганизмов из 3 проб Сорболина.

Растворимость Сорболина определяли в соответствии с ГФ XI, вып. 1.

Безвредность Сорболина определяли в тест-дозе на белых мышах, вводя суспензию препарата мышам перорально в объеме 0,5 см³.

Подлинность штаммов *B.subtilis* ВКПМ В-10172 и *B.licheniformis* ВКПМ В-10135 определяли по культурально-морфологическим свойствам и проводили видовую идентификацию с использованием системы API-50 по инструкции фирмы bioMérieux с компьютерной обработкой данных.

Определение лактозы и Хотимского трепела в Сорболине не проводили, в связи с тем, что эти компоненты вводились в препарат дозированно и обуславливали его физико-химические свойства, которые определялись в других тестах.

Все исследования проводили в трехкратной повторности (табл. 8).

Таблица 8 - Показатели качества Сорболина

Показатель качества	Требования СТО 84120471-0005- 2017	Результат испытаний	Соответствие требованиям СТО 84120471- 0005-2017
1	2	3	4
Внешний вид, цвет, запах	Сухая пористая однородная масса от беловато-серовато-го до серого цвета со специфическим запахом	Сухая пористая однородная масса сероватого цвета со специфическим запахом	Соотв.
Суммарное количество жизнеспособных <i>B.subtilis</i> ВКПМ В-10172 и <i>B.licheniformis</i> ВКПМ В-10135, КОЕ/г не менее	2×10^9	$[3,1 \pm 0,8] \times 10^9$	Соотв.
Соотношение количества <i>B.subtilis</i> ВКПМ В-10172 и <i>B.licheniformis</i> ВКПМ В-10135	1:1	1:1	Соотв.
Массовая доля влаги, % не более	4,0	$3,0 \pm 0,5$	Соотв.
Контаминация посторонними микроорганизмами	Не допускается наличие энтеро-бактерий, видов <i>P.aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i> , а также кандид и плесневых грибов. Количество сапрофитных мезофильных микроорганизмов - не более 1000 КОЕ/г.	Энтеробактерии, <i>P.aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i> , а также кандиды и плесневые грибы отсутствуют. Количество сапрофитных мезофильных микроорганизмов - 420 ± 160 КОЕ/г.	Соотв.
Растворимость	При добавлении дистиллированной воды в течение 2-х минут должен образовываться однородная взвесь с осадком сероватого цвета	При добавлении дистиллированной воды в течение 2-х минут образует однородную взвесь с осадком сероватого цвета	Соотв.

1	2	3	4
Безвредность для белых мышей	Должен быть безвреден	Безвреден	Соотв.
Подлинность штаммов	По культурально-морфологическим и ферментативным свойствам соответствуют паспортным данным	<i>B.subtilis</i> ВКПМ В-10172 и <i>B.licheniformis</i> ВКПМ В-10135	Соотв.

Показатели качества Сорболина и методы его контроля были использованы при разработке проекта инструкции по применению препарата, созданию стандарта предприятия на препарат СТО 84120471-0005-2017 и регламента промышленного производства.

2.2.4. Совершенствование метода определения количества бактерий рода *Bacillus* в пробиотике-энтеросорбенте Сорболин

Сорболин представляет собой многокомпонентную смесь, содержащую живые, но не активные бациллы в виде спор, а также энтеросорбент, включающий широкий спектр микро-макроэлементов, и лактозу.

При проведении контроля качества Сорболина одним из важнейших показателей является количество бацилл в 1 г сухого вещества.

Для измерения этого показателя применяется общеизвестный метод последовательных десятикратных разведений препарата в 0,85%-ом растворе натрия хлористого с последующим высевом микробной суспензии в чашку Петри с мясopептонным агаром. После (21 ± 1) ч инкубации при температуре $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ проводится подсчет выросших колоний и определяется количество живых бацилл в единице объема препарата.

Однако, данный метод определения количества бацилл позволяет учесть только те бактериальные клетки, которые перешли из споровой формы в вегетативную и менее чем за сутки культивирования на плотной питательной среде образовали видимую невооруженным глазом колонию, которая при подсчете учитывается, как клон одной бактериальной клетки.

*Причины ингибирования прорастания спор бактерий рода *Bacillus*.*

Проведя многочисленные исследования, мы установили, что от 10^2 до 10^5 спор бацилл, содержащихся в пробиотических препаратах различных фирм-производителей, остаются в неактивной форме и не образуют на плотной питательной среде КОЕ (колониеобразующая единица).

Следовательно, для подсчета доступны только те бациллы, которые проросли из спор и превратились в вегетативную форму.

Поэтому, учитываются не все споры бацилл, и их количество в единице объема препарата по результатам измерения оказывается значительно меньше, чем есть на самом деле.

Мы определили несколько причин данного феномена:

1. В процессе спорообразования бацилл при производстве пробиотических препаратов, появляются споры-мутанты с низким содержанием дипикотиновой кислоты и ионов кальция. Такие споры могут длительное время сохранять жизнеспособность, могут прорасти в кишечнике животных (*in vivo*), но для прорастания на плотной питательной среде (*in vitro*) им не хватает энергии.

2. Поверхность плотной питательной среды слишком сухая и спорам не достаточно влаги для набухания.

3. Споры одного и того же вида бацилл обладают различной скоростью прорастания - одни споры прорастают в течение 2-4 часов, другие – в течение 2 суток.

4. В период длительного покоя споры, ее ДНК была повреждена (что случается довольно часто), однако процессы репарации (ремонта) ДНК при прорастании споры своевременно не включаются и начинается обратный процесс.

5. Процесс активация споры, предшествующий ее прорастанию, не был инициирован (кратковременным прогреванием, воздействием химических веществ, повышением влажности поверхности питательной среды и др.).

6. При накапливании в среде ядовитых веществ, споры бацилл могут потерять способность к прорастанию.

7. Ингибируют прорастание спор D-аланин, натрия бикарбонат и другие вещества, которые могут находиться в составе питательной среды, используемой не по назначению.

8. При медленном прорастании спор бацилл на поверхности плотной питательной среды они образуют мельчайшие колонии, которые невозможно увидеть невооруженным глазом и при подсчете КОЕ такие колонии не учитываются.

9. Споры бацилл даже при благоприятных условиях могут не прорастать.

Недостоверный результат определения количества спор бацилл в пробиотическом препарате может произойти еще и потому, что споры обладают «липучестью».

Причем, при десятикратных разведениях и переносе споровой суспензии из одной пробирки в другую на стенках пробирки и рабочем носике стеклянной или пластиковой пипетки споры могут адсорбироваться и исчезают из раствора, в результате чего их количество в единице объема пробиотического препарата резко снижается.

Кроме того, споры могут образовывать в суспензии крупные конгломераты, которые включают в себя сотни тысяч слипшихся друг с другом спор. При посеве такой суспензии на плотную питательную среду, конгломерат из спор образует одну КОЕ, видимую невооруженным глазом.

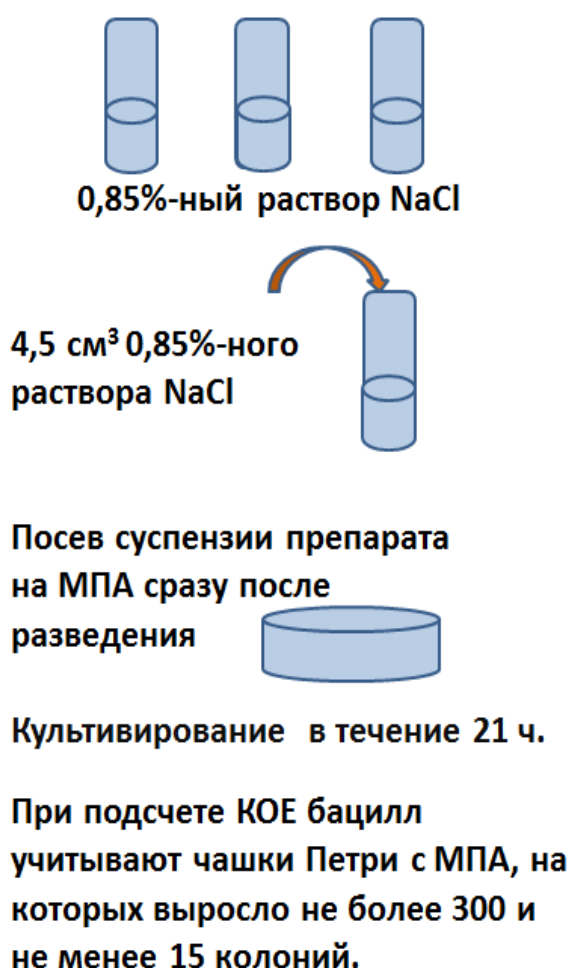
Поэтому, микробиолог может недосчитаться огромного количества бацилл, которые присутствуют в пробиотическом препарате.

Представленный усовершенствованный метод позволяет активизировать процесс прорастания спор бацилл в бактериальной суспензии за счет применения вместо физиологического раствора мясо-пептонного бульона с добавлением Твин-80 и выдерживанием суспензии перед посевом на плотной питательной среде не менее 3 часов в термостате, при температуре 37°C.

Усовершенствованные этапы и параметры метода десятикратных разведений при определении количества жизнеспособных бацилл в Сорболине.

В процессе проведения работы по усовершенствованию метода определения количества бактерий рода *Bacillus* в Сорболине были изменены и оптимизированы несколько этапов и параметров метода десятикратных разведений препарата и метода определения биологической концентрации бактерий (рис. 18).

Метод 10-кратных разведений



Усовершенствованный метод



Рисунок 18 - Усовершенствованные этапы и параметры метода десятикратных разведений при определении количества жизнеспособных бацилл в Сорболине

Основные усовершенствованные этапы и параметры метода десятикратных разведений:

1. При последовательных десятикратных разведениях навески Сорболина вместо 0,85%-ного хлористого натрия используется мясо-пептонный бульон.
2. В пробирки для разведения Сорболина необходимо внести 4,0 см³ МПБ и добавить 0,5 мл 10%-ного раствора Твин-80 для предотвращения слипания спор и разрушения споровых конгломератов (вместо 4,5 см³ 0,85%-ного хлористого натрия).
3. Разведенная в МПБ суспензия Сорболина выдерживается при комнатной температуре (25±2)°С в течение 3 ч для активизации спор (вместо посева на МПА сразу после разведения).
4. Посевы суспензии Сорболина необходимо термостатировать при температуре (36±1)°С в течение (45±3) ч. (вместо 21±1) ч).
5. При подсчете КОЕ бацилл учитывают чашки Петри с мясо-пептонным агаром, на которых выросло не менее 5 колоний (вместо «не более 300 и не менее 15»).

Таблица 9 - Результаты исследований по определению количества бацилл в пробиотических препаратах общепринятым и усовершенствованным методом десятикратных разведений

Пробиотический препарат	Количество исследованных проб	Количество бацилл, КОЕ/г		
		Нормативный показатель, не менее	Общепринятый метод	Усовершенствованный метод
Сорболин	228	$2 \cdot 10^9$	$[3,5 \pm 1,5) \cdot 10^8$	$[2,8 \pm 0,5) \cdot 10^9$
Олин	18	$2 \cdot 10^9$	$[1,5 \pm 1,0) \cdot 10^8$	$[2,2 \pm 0,2) \cdot 10^9$
Ветом	9	10^6	$[1,5 \pm 0,5) \cdot 10^5$	10^6

По данной методике нами было проведено 255 исследований (табл. 9) по определению КОЕ бацилл в различных пробиотических препаратах и до-

стоверно подтверждено, что усовершенствованный метод определения количества бактерий рода *Bacillus* в пробиотической кормовой добавке Сорболин является воспроизводимым, доступным и чувствительным и позволяет учитывать до 99,5% жизнеспособных бацилл в единице объема препарата.

2.2.5. Определение антимикробной активности Сорболина in vitro в отношении патогенных бактерий, грибов и простейших, вызывающих кишечные инфекции у телят

Антибактериальную и противогрибную активность Сорболина определяли в отношении культур бактерий *E.coli*, *S.dublin*, *S.aureus* и *P.aeruginosa*, а также плесневого гриба *A.niger*.

Для изучения бактерицидного и фунгицидного действия Сорболина использовали бульонные культуры бактерий и грибов. Бактерии культивировали в МПБ, грибы – в бульоне Сабуро.

В каждую пробирку вносили по 5 мл бульонной культуры определенных видов бактерий с содержанием 2 млрд. микр. клеток в 1 мл и добавляли по 1, 3 и 5 мл суспензии Сорболина, разведенной физиологическим раствором.

Содержимое пробирок тщательно перемешивали и выдерживали в термостате при температуре 37°C в течение суток. Через 2, 6, 12 и 24 часа экспозиции из содержимого пробирок делали посев на МПА и через сутки инкубирования в термостате подсчитывали количество выросших колоний бактерий. В качестве контроля использовали бактериальные суспензии, в которые вносили вместо Сорболина аналогично физраствор (табл. 10).

Таблица 10 - Антимикробная активность Сорболина

Тест-культура	Количество суспензии Сорболина, внесенной в бульонную культуру бактерий	Продолжительность инкубирования, ч	Количество бактерий после обработки Сорболином, КОЕ/мл	Эффективность бактерицидного действия, %
E.coli	1	2	54±9	<100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100

	3	2	0	100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
	5	2	0	100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
S.dublin	1	2	36±4	<100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
	3	2	0	100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
	5	2	0	100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
S.aureus	1	2	0	100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
	3	2	0	100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
	5	2	0	100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
P.aeruginosa	1	2	155±12	<100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
	3	2	0	100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100
	5	2	0	100
		6	0	100
		12	0	100
		24	0	100

Как следует из данных таблицы 10, антимикробная активность Сорболина находилась в прямой зависимости от объемного соотношения препарата

и бактериальной суспензии, а также от времени воздействия Сорболина на бактерии – чем больше суспензии Сорболина было внесено в бульонную культуру бактерий и чем длительнее биологически активные компоненты препарата воздействовали на микроорганизмы, тем более эффективно проявлялось антимикробное действие Сорболина.

Через 2 часа воздействия Сорболина на бульонную культуру выживали единичные бактерии *E.coli* и *S.dublin*, а через 6 ч эшерихии, сальмонеллы и синегнойная палочка из суспензии не высевались.

S.aureus был наименее устойчив к воздействию Сорболина и через 2 часа вся бульонная культура золотистого стафилококка погибала (рис. 19).

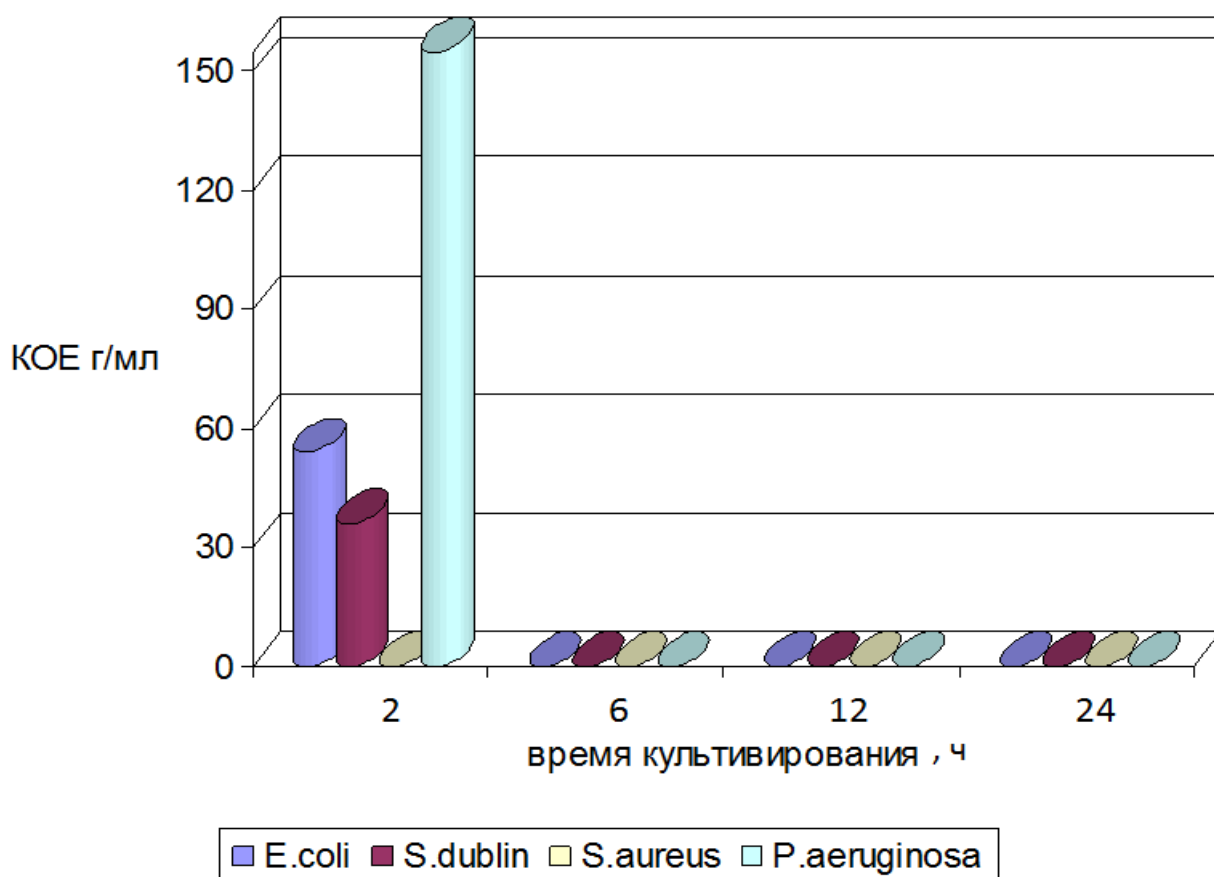


Рисунок 19 - Антибактериальная активность Сорболина (1:5)

Во всех случаях из бульонных культур выделяли бациллы-компоненты Сорболина в высокой концентрации.

В контрольных пробах отмечался бурный рост микроорганизмов.

Аспергиллы культивировали на агаре Сабуро в течение 14 сут, затем смывали воздушный мицелий бульоном Сабуро и определяли количество спор грибов в суспензии методом посева на агар Сабуро. При подсчете колоний через 7 дней было установлено количество аспергилл в 1 мл бульонной суспензии, равное $3,5 \cdot 10^5$ КОЕ.

Затем отмеряли в пробирки по 5 мл бульонной культуры аспергилл и в каждую пробирку с грибами вносили по 1, 3 и 5 мл суспензии Сорболина. Через 24 ч, 5, 10 и 14 суток культивирования грибов при комнатной температуре в присутствии Сорболина отбирали содержимое пробирок и делали посев на агар Сабуро. Результаты учитывали ежедневно в течение 14 сут при выдерживании чашек с посевами аспергилл при комнатной температуре. В качестве контроля использовали аналогичную грибную бульонную культуру, в которую вместо Сорболина аналогично вносили физраствор (табл. 11).

Таблица 11 - Фунгицидная активность Сорболина

Тест-культура	Количество суспензии Сорболина, внесенной в бульонную культуру грибов	Продолжительность инкубирования	Количество грибов после обработки Сорболином, КОЕ/мл	Эффективность фунгицидного действия, %
A.niger	1	24 ч	556±34	<100
		5 сут	0	100
		10 сут	0	100
		14 сут	0	100
	3	24 ч	224±18	100
		5 сут	0	100
		10 сут	0	100
		14 сут	0	100
	5	24 ч	197±22	100
		5 сут	0	100
		10 сут	0	100
		14 сут	0	100

Из данных таблицы следует, что через 24 ч воздействия 1 мл Сорболина на культуру гриба, аспергиллы не погибали, однако их концентрация уменьшилась в 6295 раз, в сравнении с их количеством до постановки опыта.

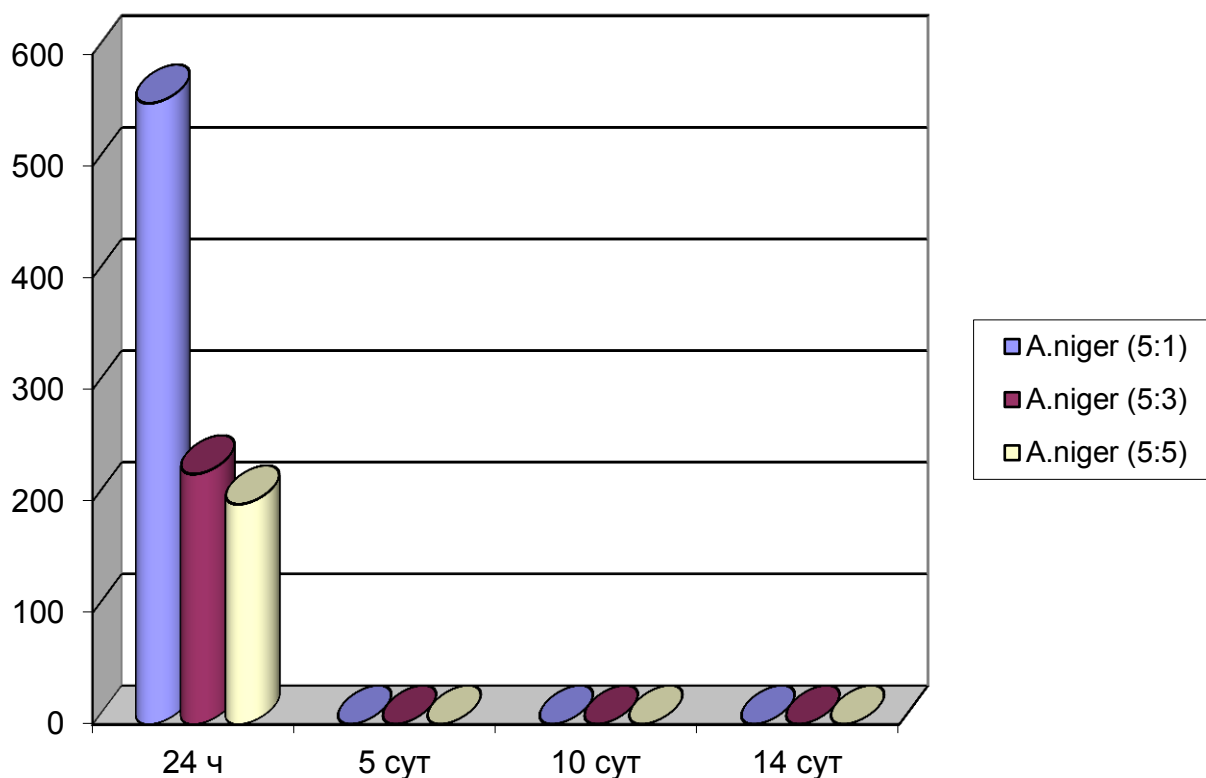


Рисунок 20 - Фунгицидная активность Сорболина

При добавлении в культуру аспергилл 3 и 5 мл Сорболина, через 24 ч инкубирования концентрация грибов уменьшилась в 15625 и в 17766 раз, соответственно.

Таким образом, Сорболин обладает высокой антибактериальной активностью и через 6 часов бульонные культуры эшерихий, сальмонелл, псевдомонад и стафилококков погибают после добавления к ним Сорболина в соотношении объемов препарата и бульонной культуры 1:5. Сорболин проявляет высокую фунгицидную активность в отношении аспергилл уже через 24 ч воздействия на грибную бульонную культуру, через 5 суток аспергиллы в суспензии не обнаруживаются.

Определение противопаразитарной активности Сорболина в отношении эймерий. Для изучения противопаразитарной активности Сорболина в отношении эймерий, из неблагополучного по эймериозу хозяйства на кафедру микробиологии были доставлены участки толстого отдела кишечника от 3 павших телят в возрасте 1 месяца с клиническими признаками эймериоза

(понос с прожилками крови, вздутие живота).

После проведения микробиологических исследований содержимого толстого отдела кишечника павших животных, был диагностирован эймериоз (кокцидиоз).

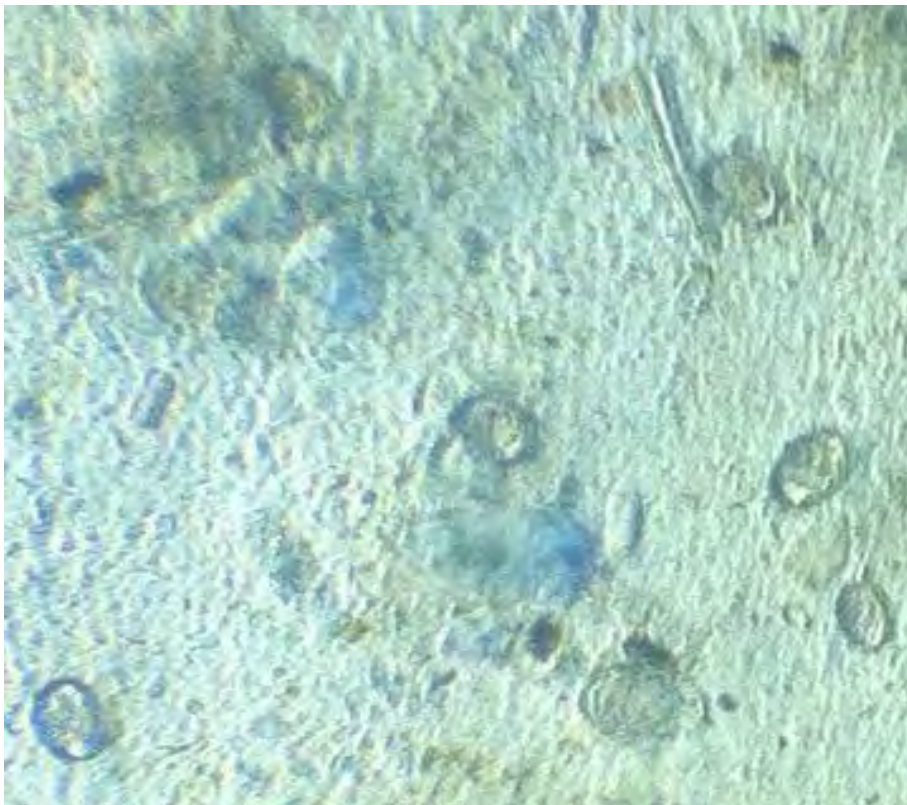


Рисунок 21 - Эймерии в поле зрения микроскопа

Из кишечного содержимого павших телят были выделены эймерии в количестве (22 ± 3) штук в 1 г фекалий.

Была приготовлена концентрированная суспензия эймерий, которую хранили в холодильнике при температуре 4°C и использовали в процессе работы.

В суспензию эймерий вносили разведенный физраствором Сорболин в соотношениях 1:1 к объему суспензии и выдерживали в термостате при температуре 37°C в течение 60 мин. Затем в 10 полях зрения микроскопа подсчитывали количество живых эймерий. В качестве контроля вместо Сорболина использовали водопроводную воду.

Исследования проводили в трехкратной повторности.

Таблица 12 - Результаты определения противопаразитарной активности Сорболина в отношении эймерий *in vitro*

№ п/п	Испытуемая проба	Количество паразитов в 10 полях зрения микроскопа
1	До начала постановки опыта	22±3
2	Опытная	7±2
3	Контрольная	28±6

Было установлено, что Сорболин обладает высокой противопаразитарной активностью *in vitro* в отношении эймерий при экспозиции 60 мин и соотношении препарата и суспензии паразитов 1:1.

При обработке суспензии эймерий Сорболином, их количество уменьшилось в 3 раза по сравнению с контролем.

В опытной пробе в 5 полях зрения микроскопа из 10 эймерии не обнаруживались, в то время как в контрольной пробе они обнаруживались в каждом поле зрения микроскопа (рис. 22 и 23).

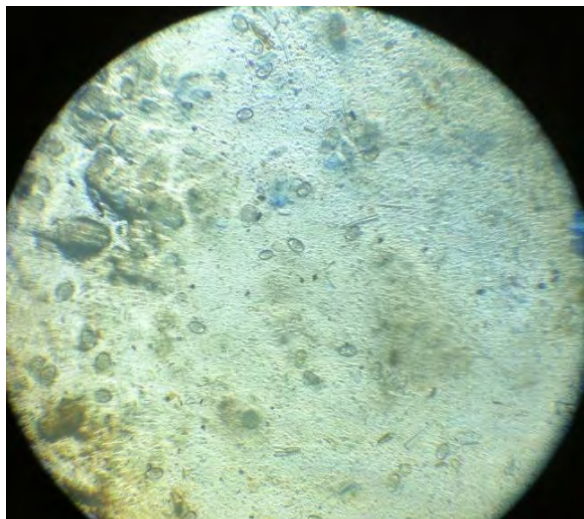


Рисунок 22- Эймерии в контрольной пробе, обработанной водопроводной водой

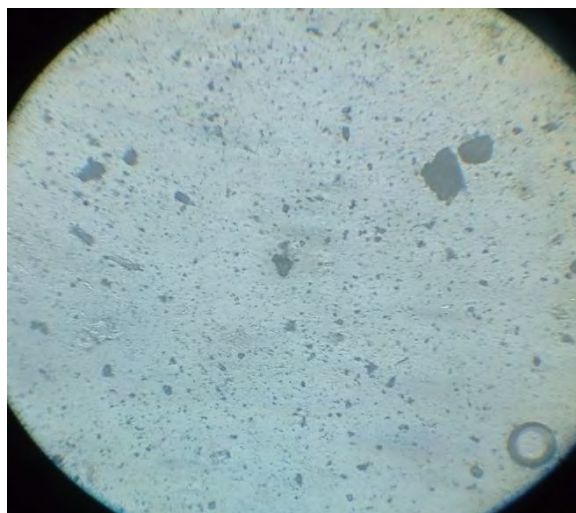


Рисунок 23- Опытная проба, обработанная суспензией Сорболина

На основании проведенных исследований можно заключить, что пробиотик-энтеросорбент Сорболин обладает высокой антибактериальной, фунгицидной и противопаразитарной активностью *in vitro*.

2.2.6. Определение острой и хронической токсичности Сорболина

Токсичность Сорболина изучали на белых мышах, белых крысах, морских свинках, кроликах и козах заанненской породы.

Параметры острой накожной токсичности Сорболина на крысах.

Для изучения параметров острой накожной токсичности Сорболина были сформированы 2 опытные и 1 контрольная группы белых беспородных крыс-самцов массой 170-180 г. В каждой группе находилось по 6 особей.

Препарат разводили дистиллированной водой 1:1 и наносили однократно с помощью шприца без иглы в дозах 14850 и 9900 мг/кг, что соответствует 1,5 и 1,0 г препарата на 100 г массы животного. За сутки до нанесения препарата крысам выбривали шерсть в области спины размером 6х6 см. После нанесения препарата каждое животное помещали в фиксатор для крыс AE1001-R1 на 20 минут для полного впитывания препарата и предотвращения его слизывания другими животными из группы.

Животным контрольной группы Сорболин не наносили.

В течение 14 суток проводили наблюдение за общим состоянием и поведением животных, возможной гибелью, а также проявлением симптомов интоксикации. Контроль массы тела опытных животных и контрольной группы проводили в день постановки опыта (до нанесения препарата), а также на 1, 3, 7, 9 и 14 сутки.

В результате проведенного клинического осмотра крыс опытных групп признаков интоксикации не было выявлено. Общее состояние животных было удовлетворительным, изменений в поведении не отмечено, аппетит и жажда не были изменены, судороги не наблюдались; координация движений не была нарушена; тонус скелетных мышц соответствовал норме.

По результатам определения живой массы крыс опытных групп во все периоды взвешивания не было выявлено достоверных различий с показателями контрольных животных.

Динамика массы тела животных опытных и контрольной групп пред-

ставлена в таблице 13 и на рис. 24.

Таблица 13 - Динамика массы тела крыс, г (n=6)

№ животного	Контрольная группа	1 опытная [14850 мг/кг)	2 опытная [9900 мг/кг)
0 сутки			
1	172	175	170
2	180	172	175
3	182	176	172
4	180	171	173
5	173	170	178
6	173	175	179
Хср ± Δ	176,67 ± 4,68	173,17 ± 2,60	174,5 ± 3,68
1 сутки			
1	178	175	172
2	182	174	175
3	183	179	178
4	184	178	179
5	173	173	182
6	179	177	181
Хср ± Δ	179,83 ± 4,27	176,00 ± 2,48	177,83 ± 3,95
3 сутки			
1	183	179	178
2	186	180	183
3	189	187	188
4	189	180	189
5	183	176	186
6	176	182	188
Хср ± Δ	184,33 ± 5,12	180,67 ± 3,85	185,33 ± 4,38
7 сутки			
1	196	206	195
2	224	210	202
3	205	213	198
4	206	214	210
5	210	200	211
6	211	197	209
Хср ± Δ	208,67 ± 9,65	206,67 ± 7,32	204,17 ± 7,13
9 сутки			
1	210	215	211
2	235	224	223
3	216	223	219
4	208	220	228
5	222	221	229
6	222	210	213

Хср ± Δ	218,83 ± 10,33	218,83 ± 5,61	220,50 ± 7,90
14 сутки			
1	222	230	222
2	252	256	241
3	239	242	233
4	243	233	259
5	239	243	260
6	248	228	234
Хср ± Δ	240,50 ± 10,92	238,67 ± 11,01	241,50 ± 15,96

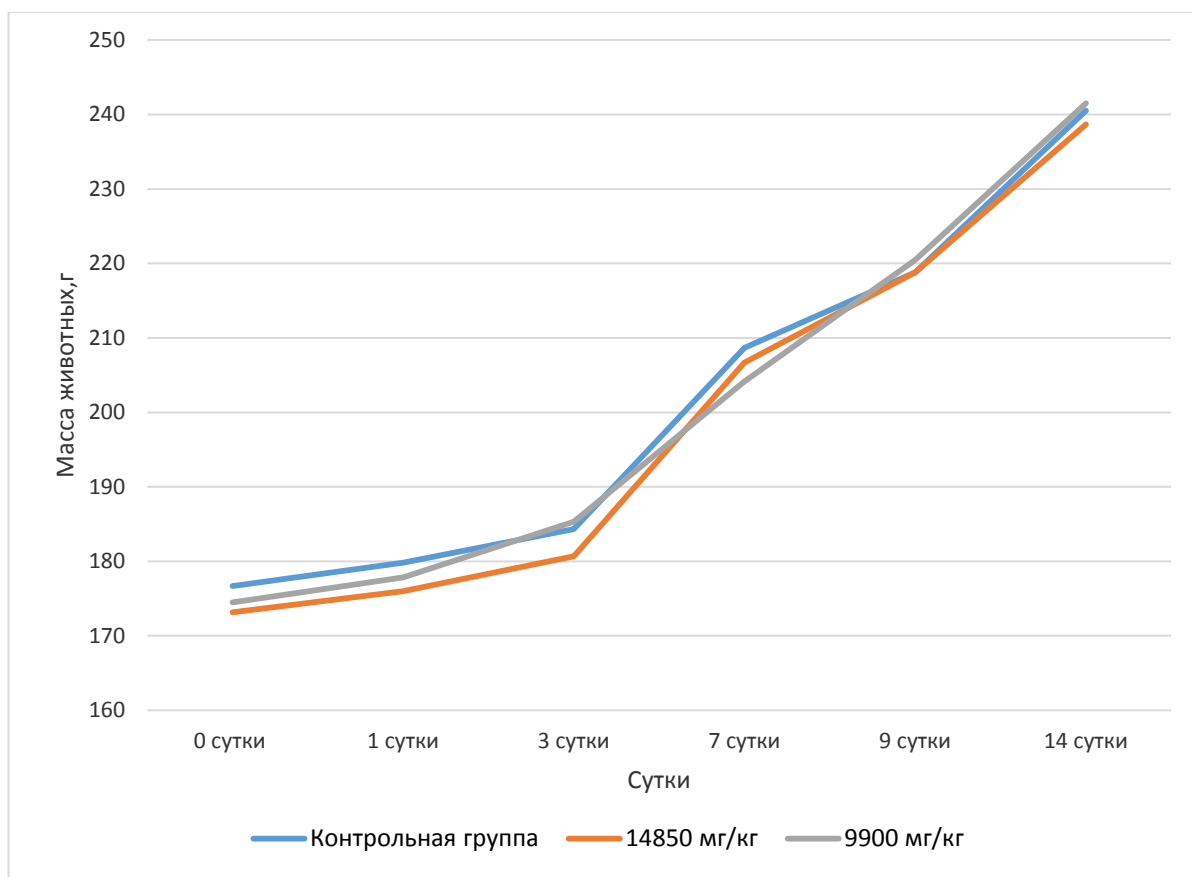


Рисунок 24 - Изменение массы тела крыс в процессе эксперимента

В результате анализа данных, приведенных в таблице 14, не было выявлено достоверной разницы показателей процента прироста живой массы у крыс опытных групп по сравнению с контрольными животными.

Таблица 14 - Процент к исходной массе тела животных, %

№ животного	Контрольная группа	1 опытная [14850 мг/кг]	2 опытная [9900 мг/кг]
1	2	3	4
1	29,07	31,43	30,59

1	2	3	4
2	40,00	48,84	37,71
3	31,32	37,50	35,47
4	35,00	36,26	49,71
5	38,15	42,94	46,07
6	43,35	30,29	30,73
Хср ± Δ	36,15 ± 5,66	37,88 ± 7,38	38,38 ± 8,33

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что LD₅₀ препарата Сорболин при накожном нанесении крысам составляет более 14850 мг/кг массы животного.

Таблица 15 - Результаты накожного нанесения Сорболина крысам

Доза, мг/кг	Общее количество животных (павших/выживших)
14850	0/6
9900	0/6
Контрольная группа	0/6

Согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76) Сорболин относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные).

Изучение острой пероральной токсичности Сорболина на мышах.

Для определения параметров острой пероральной токсичности Сорболина были сформированы 3 опытных и 1 контрольная группы белых беспородных мышей-самцов массой 18-22 г. В каждой группе находилось по 10 особей, всего в опыт было включено 40 мышей.

Препарат предварительно разводили водой и вводили с помощью внутрижелудочного зонда и механического дозатора с варьируемыми объемами дозирования 100-1000 мкл. Животным контрольной группы вводили питьевую воду в дозе 0,5 мл на мышь (25 мл/кг).

Таблица 16 - Дозы Сорболина, испытанные в опыте

Группа	Количество животных	Доза, мл/кг	Доза, мл/на мышь
1 опытная	10	5	0,1
2 опытная	10	25	0,5
3 опытная	10	50	1,0
Контрольная	10	25	0,5

Дозы были ориентировочными и выбраны, исходя из предположения о низкой токсичности препарата биологического происхождения.

Наивысшая доза - 1 мл была максимально возможной для перорального введения мышам.

В 3 опытной группе препарат вводили двукратно с интервалом 3 часа между введениями, чтобы исключить вероятность проявления токсических эффектов, обусловленных большим объемом вводимого раствора. Другим группам Сорболин вводили однократно (рис. 25).

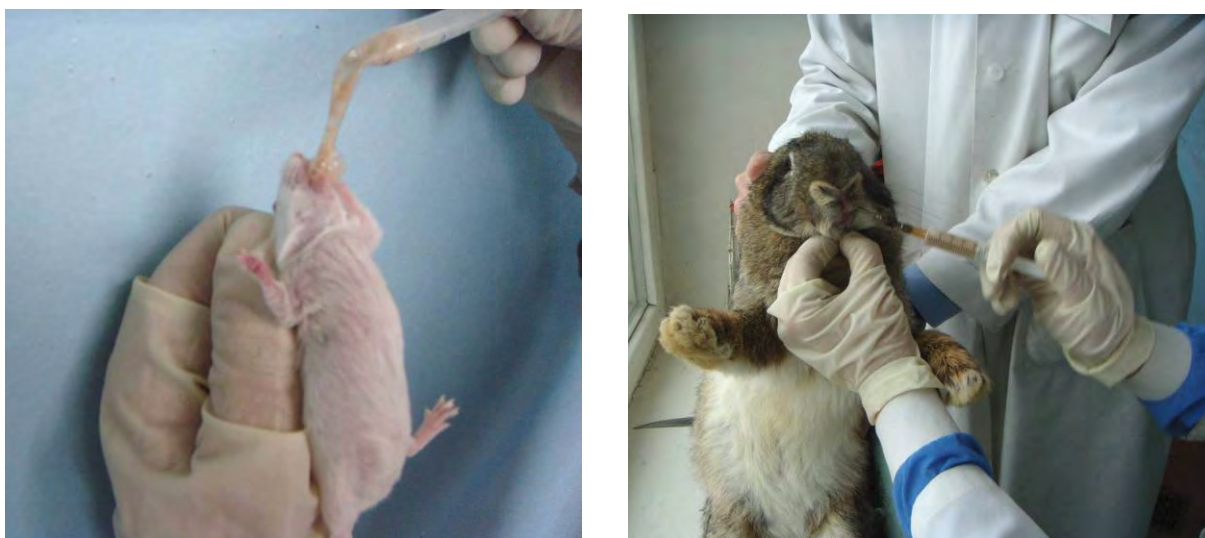


Рис. 25 - Выпаивание суспензии Сорболина белым мышам и кроликам

В течение 14 суток проводили наблюдение за общим состоянием и поведением животных, проявлением симптомов интоксикации, а также возможной гибелью. Контроль массы тела мышей опытных и контрольной групп проводили в день постановки опыта (до введения препарата), а также на 5 и 14 сутки.

После введения Сорболина во всех испытанных дозах и в течение 14 дней наблюдений гибели животных и признаков интоксикации не отмечали. При патологоанатомическом вскрытии по окончании эксперимента не было выявлено отклонений от нормы.

Таблица 17 - **Масса тела мышей в течение эксперимента**

Период исследования	Группы			
	контроль	5 мл/кг	25 мл/кг	50 мл/кг
До введения	19,1±0,73	20,3±0,39	19,8±0,58	20,8±1,15
3 сутки	22,3±0,86	24,1±0,60	23,4±0,44	24,2±0,82
14 сутки	27,5±1,21	28,3±0,81	28,1±0,95	27,25±0,98

Примечание: при $p > 0,05$

Достоверных различий в изменении массы тела не отмечали.

В связи с отсутствием гибели животных даже в максимальной дозе рассчитать ЛД₅₀ не представлялось возможным. Очевидно, что пероральная ЛД₅₀ будет значительно превышать максимальную испытанную дозу 50 мл/кг, следовательно, препарат можно отнести к 4 классу опасности (малоопасные).

Изучение раздражающего действия Сорболина на кожу крыс. Раздражающее действие Сорболина оценивали в опыте по определению острого токсического действия при накожном нанесении.

Первичную реакцию кожи оценивали сразу после нанесения препарата, далее через 15 минут; 30 минут; 1; 3; 24; 48 и 72 часа.

Оценивали состояние кожи, обращая особое внимание на возможность ее покраснения, отека, наличия трещин, изъязвлений, кровоизлияний, появления сухой корки и т.д.

При постановке опыта по определению параметров острой накожной токсичности одновременно оценивали воздействие Сорболина на кожу.

В начальные и последующие периоды наблюдений при нанесении препарата на кожу во всех тестируемых дозах отсутствовали какие-либо характерные признаки раздражения, отечность, изъязвления и т.п.

Таблица 18 - **Влияние Сорболина на кожу крыс**

Критерии оценки раздражающего действия на кожу:	Наличие или отсутствие (+/-)
Эритема	-
Увеличение кожной складки	-
Трещины, изъязвления и т.п.	-
Температура кожи	N

Как следует из представленных в таблице данных, Сорболин не оказывает раздражающего действия на кожу крыс при однократном нанесении.

Изучение субхронической токсичности Сорболина при накожном нанесении крысам. Субхроническую токсичность Сорболина изучали на крысах-самцах массой 220-235 г. Были сформированы 2 опытные и 1 контрольная группы по 10 голов в каждой.

Сорболин наносили ежедневно 2 раза в сутки в течение 45 дней на кожу в виде суспензии с помощью одноканального механического дозатора объемом дозирования 100-1000 мкл в дозах 0,5 и 0,75 мл на 100 г массы, что соответствовало ориентировочным дозам 5 и 7,5 мл/кг. Использование более высоких доз было нецелесообразно из-за стекания препарата и невозможности точного дозирования.

За сутки до первого нанесения препарата, а затем 1 раз в 7-10 дней крысам выбривали шерсть в области спины размером 6х6 см. После нанесения препарата каждое животное помещали в фиксатор для крыс АЕ1001-Р1 на 20 минут для полного впитывания препарата и предотвращения его слизывания другими животными из группы. Нанесение исследуемого препарата проводили в дозах, указанных в таблице 19.

Таблица 19 - Дозы Сорболина, наносимые на кожу крыс

Группа	Количество крыс	Доза, мл/кг	Доза, мл/100г
1 опытная	10	7,5	0,75
2 опытная	10	5	0,5
Контрольная	10	-	-

В течение всего периода нанесения препарата вели наблюдение за общим состоянием и поведением животных, реакцией на раздражители (звук, свет), проявлением симптомов интоксикации, возможной гибелью. На 1, 20, 45 сутки опыта регистрировали массу тела.

На следующие сутки после последнего нанесения препарата (46 сутки опыта) половину животных из каждой группы подвергали эвтаназии и отбирали пробы крови (в пробирки с и без антикоагулянта) для определения ге-

матологических и биохимических показателей. Через 10 сут после последнего нанесения препарата Сорболин (56 сут опыта) подвергали эвтаназии вторую половину животных и отбирали пробы крови для оценки степени обратимости возможных токсических процессов после многократного применения препарата.

Проводили макроскопическое исследование кожи, печени, легких, почек, сердца, селезенки; отбирали пробы органов у всех крыс каждой группы и определяли массу органов, рассчитывали массовые коэффициенты.

Функциональное состояние ЦНС оценивали по визуальным наблюдениям за двигательной активностью и реакциям на внешние раздражители.

В результате проведенного клинического осмотра животных опытных групп признаков интоксикации не было выявлено.

Показатели живой массы крыс в течение эксперимента, представленные в таблице 20 и на рис. 26, свидетельствуют о том, что накожное нанесение Сорболина в течение 45 суток в дозах 5 и 7,5 мл/кг не привело к снижению массы тела животных опытных групп по сравнению с контрольными.

Таблица 20 - Динамика массы тела животных, г (n=10)

№ животного	Контрольная группа	1 опытная (7,5 мл/кг)	2 опытная (5 мл/кг)
1	2	3	4
1 сутки			
1	230	222	235
2	226	238	236
3	231	233	229
4	229	224	227
5	229	236	233
6	227	231	225
7	226	225	228
8	231	229	237
9	226	224	232
10	224	228	227
Хср ± Δ	227,90 ± 1,73	229,00 ± 3,89	230,90 ± 3,04
20 сутки			
1	342	329	311

1	2	3	4
2	332	338	313
3	347	241	289
4	312	241	322
5	308	331	305
6	317	339	307
7	320	316	305
8	339	326	299
9	305	332	357
10	308	310	285
Хср ± Δ	323,00 ± 11,22	310,30 ± 26,90	309,30 ± 14,32
45 сутки			
1	406	382	362
2	378	380	368
3	410	391	367
4	366	372	378
5	373	368	386
6	383	385	362
7	377	372	363
8	382	373	354
9	353	385	410
10	359	384	342
Хср ± Δ	378,70 ± 13,06	379,20 ± 5,36	369,20 ± 13,37

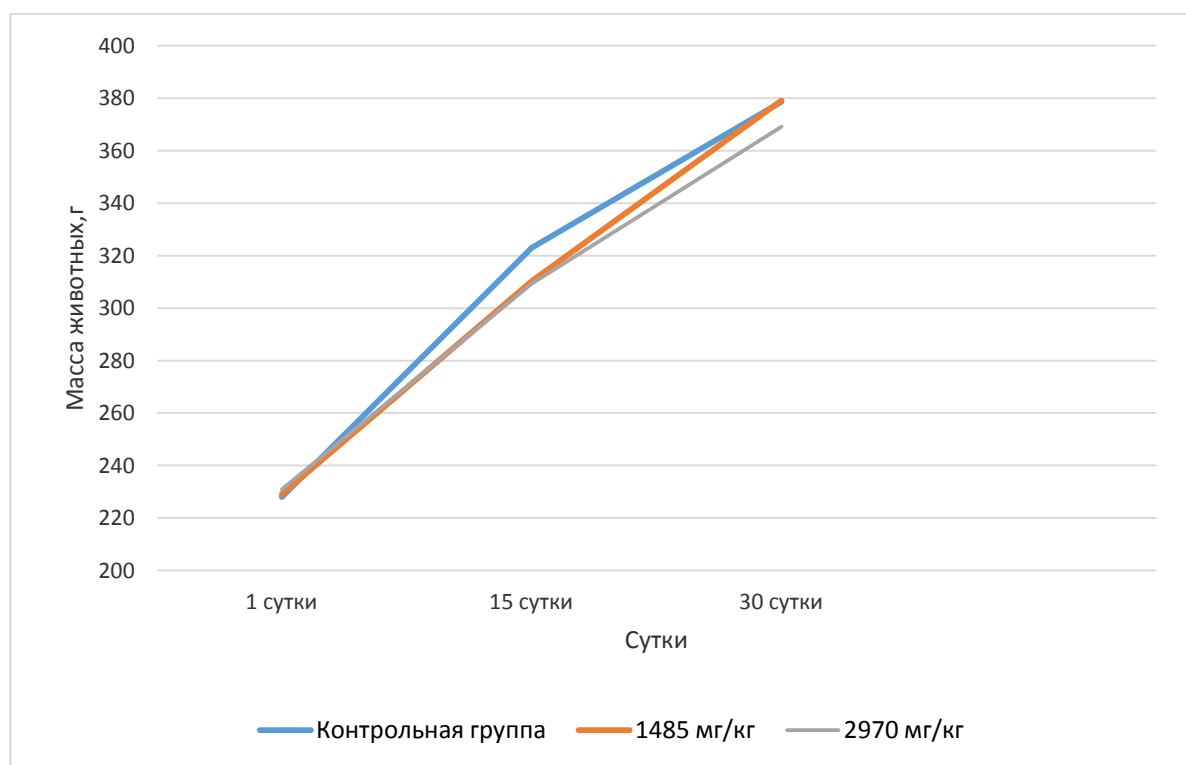


Рисунок 26 - Изменение массы тела крыс

За все время опыта не было отмечено статистически достоверных отличий в показателях массы тела подопытных крыс, не выявлено достоверной разницы показателей процента прироста живой массы крыс опытных групп по сравнению с контрольными аналогами (табл. 21).

Таблица 21 - Процент к исходной массе тела животных, %

№ животного	Группы		
	Контрольная группа	1 опытная (7,5 мл/кг)	2 опытная (5 мл/кг)
1	76,52	72,07	54,04
2	67,26	59,66	55,93
3	77,49	67,81	60,26
4	59,83	66,07	66,52
5	62,88	55,93	65,67
6	68,72	66,67	60,89
7	66,81	65,33	59,21
8	65,37	62,88	57,38
9	56,19	71,88	76,72
10	60,27	68,42	50,66
Хср ± Δ	66,13 ± 4,94	65,67 ± 3,63	60,73 ± 5,31

Относительная масса органов является наглядным показателем токсического действия препаратов при их длительном нанесении. Вычисление относительной массы каждого органа проводили по формуле:

$$S = (m / M) \cdot 100,$$

где S – относительная масса органа,

m – масса органа, г

M – масса тела животного, г.

Таблица 22 - Массовые коэффициенты органов крыс после 45-ти суточного нанесения препарата (n=5)

Органы	Контрольная группа	Дозы, мл/кг	
		7,5	5
Печень	2,85 ± 0,34	2,66 ± 0,3	2,97 ± 0,23
Почки	0,76 ± 0,16	0,78 ± 0,05	0,79 ± 0,03
Селезенка	0,26 ± 0,04	0,26 ± 0,02	0,27 ± 0,03
Легкие	0,65 ± 0,16	0,61 ± 0,21	0,77 ± 0,06
Сердце	0,51 ± 0,05	0,50 ± 0,03	0,55 ± 0,04

Результаты расчетов массовых коэффициентов органов на первые сутки после последнего нанесения Сорболина приведены в таблице 18 и свидетельствуют о том, что во всех испытываемых дозах массовые коэффициенты всех органов животных на первые сутки после последнего нанесения препарата статистически достоверно не отличались от показателей контрольной группы.

Также не было выявлено достоверных отличий в показателях массовых коэффициентов органов через 10 дней после последнего нанесения Сорболина (табл. 23).

Таблица 23 - Массовые коэффициенты органов крыс через 10 дней после последнего нанесения препарата (n=5)

Органы	Контрольная группа	Дозы, мл/кг	
		7,5	5
Печень	$3,03 \pm 0,39$	$2,70 \pm 0,25$	$3,05 \pm 0,42$
Почки	$0,74 \pm 0,12$	$0,82 \pm 0,08$	$0,78 \pm 0,08$
Селезенка	$0,26 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,05$	$0,26 \pm 0,04$
Легкие	$0,79 \pm 0,07$	$0,66 \pm 0,16$	$0,73 \pm 0,09$
Сердце	$0,50 \pm 0,03$	$0,55 \pm 0,09$	$0,51 \pm 0,05$

По результатам макроскопического исследования органов различий между группами не было установлено, в связи с чем, данные некропсии крыс представлены как средние для всех групп.

При наружном осмотре крыс выделений из естественных отверстий не обнаружено. Шерсть была блестящая, без очагов аллопеции, зубы сохранены. Видимые слизистые оболочки бледно-розовые, блестящие. Деформации или отека конечностей не выявлено. Развитие наружных половых органов соответствует физиологической норме.

Грудная и брюшная полости выпота не содержали. Положение внутренних органов грудной и брюшной полостей анатомически правильное. Парие- тальный и висцеральный листки плевры и брюшины тонкие, блестящие, гладкие.

При макроскопическом исследовании печени, легких, почек, сердца, селезенки и кожного покрова после нанесения препарата крысам в двух испытанных дозах отмечено следующее.

В дозах 7,5 и 5 мг/кг изменений в печени не обнаружено. Форма и величина печени соответствуют норме. Поверхность печени гладкая, однородной темно-красной окраски, капсула тонкая, прозрачная. Ткань печени на разрезе полнокровная, умеренно плотная.

Во всех дозах строение легких соответствовало норме. Просвет трахеи и крупных бронхов не изменен, слизистая оболочка блестящая, гладкая, бледного цвета. Легкие воздушные, без уплотнений на ощупь, бледно-розовой окраски.

Во всех дозах в почках изменения отсутствовали. Величина и форма почек не изменены. Поверхность почек коричневатого цвета, гладкая, капсула тонкая, прозрачная, легко снимаемая. На разрезе органа хорошо различимы корковое и мозговое вещество.

Величина и форма сердца контрольных крыс не отличалась от опытных. В правом и левом желудочках содержалось незначительное количество темной жидкой крови. Клапаны сердца тонкие, блестящие, гладкие. Сердечная мышца на разрезе имела однородную вишнево-коричневатую окраску и умеренно плотную консистенцию.

Селезенка во всех группах обычной формы, темно-вишневого цвета, умеренно плотной консистенции. Поверхность органа гладкая, капсула тонкая. На разрезе, на темно-красном фоне селезенки видны мелкие сероватого цвета фолликулы. В подкожной жировой клетчатке на месте нанесения Сорболина изменений не выявлено.

При проведении патологоанатомического вскрытия на 46 и 56 сутки опыта каких-либо отличий органов крыс опытных групп от контрольных особей выявлено не было.

Морфологическое исследование крови животных. Объективная оценка токсических свойств в формате настоящего опыта также включала опре-

деление гематологических показателей крови крыс. Результаты определения гематологических показателей обобщены в таблицах 24 и 25.

Таблица 24 - Гематологические показатели крови крыс после 46-дневного применения препарата (n=5)

Показатель	Контрольная группа	Дозы, мл/кг	
		7,5	5
Гематокрит, %	50,54 ± 2,94	51,06 ± 2,42	49,86 ± 2,65
Гемоглобин, г/л	154,00 ± 6,02	162,60 ± 9,23	163,00 ± 9,45
Эритроциты, 10 ¹² /л	9,37 ± 0,28	9,94 ± 0,64	9,87 ± 0,91
Лейкоциты, л	13,46 ± 1,46	13,28 ± 2,22	13,88 ± 1,86
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	825,80 ± 188,3	737,00 ± 106,56	718,20 ± 104,43
Лейкоцитарная формула			
ПЯ нейтрофилы, %	1,00 ± 0,88	0,80 ± 0,56	0,60 ± 0,68
СЯ нейтрофилы, %	26,00 ± 2,78	23,00 ± 3,62	26,60 ± 4,17
Эозинофилы, %	2,00 ± 0,88	1,80 ± 1,36	1,80 ± 1,04
Моноциты, %	3,0 ± 1,24	2,0 ± 0,88	2,40 ± 1,42
Лимфоциты, %	68,00 ± 2,91	72,40 ± 2,86	68,60 ± 4,53

Проанализировав результаты гематологических исследований на 46 и 56 сутки опыта, мы не выявили статистически достоверных изменений гематологических показателей крыс опытных и контрольной групп.

Таблица 25 - Гематологические показатели крови крыс через 10 дней после последнего нанесения препарата (n=5)

Показатель	Контрольная группа	Дозы, мл/кг	
		7,5	5
Гематокрит, %	50,22 ± 5,12	51,46 ± 2,61	50,38 ± 3,29
Гемоглобин, г/л	157,60 ± 8,72	157,40 ± 8,54	157,80 ± 9,79
Эритроциты, 10 ¹² /л	10,54 ± 1,03	10,08 ± 0,73	10,94 ± 0,95
Лейкоциты, л	14,12 ± 2,6	13,62 ± 1,26	13,76 ± 2,65
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	822,80 ± 187,08	815,40 ± 130,31	883,60 ± 52,38
Лейкоцитарная формула			
ПЯ нейтрофилы, %	0,40 ± 1,11	0,80 ± 0,56	0,20 ± 0,56
СЯ нейтрофилы, %	26,80 ± 4,59	26,40 ± 5,45	25,00 ± 3,62
Эозинофилы, %	2,20 ± 1,04	1,44 ± 0,64	2,00 ± 1,24
Моноциты, %	3,20 ± 1,04	3,00 ± 0,88	2,80 ± 1,04
Лимфоциты, %	67,40 ± 4,35	68,40 ± 6,18	70,00 ± 1,96

Биохимические исследования сыворотки крови животных. В таблицах 26 и 27 приведены результаты определения биохимических показателей сыворотки крови крыс после многократного накожного нанесения Сорболина.

Таблица 26 - Биохимические показатели сыворотки крови крыс после 45-дневного применения препарата (n=5)

Показатель	Контрольная группа	Дозы, мл/кг	
		7,5	5
Билирубин общ., мкмоль/л	4,08 ± 0,77	3,60 ± 1,21	3,92 ± 0,56
Билирубин прям., мкмоль/л	0,70 ± 0,36	0,74 ± 0,26	0,90 ± 0,29
АСТ, Ед/л	164,60 ± 30,59	179,20 ± 14,93	168,00 ± 22,62
АЛТ, Ед/л	63,00 ± 21,14	65,60 ± 7,88	67,40 ± 10,41
Мочевина, ммоль/л	5,82 ± 1,49	6,34 ± 0,88	5,98 ± 0,7
Креатинин, мкмоль/л	57,20 ± 6,76	58,20 ± 10,21	55,40 ± 6,37
Общий белок, г/л	72,80 ± 3,21	71,60 ± 2,57	70,80 ± 4,92
ЩФ, Ед/л	237,20 ± 61,22	270,00 ± 75,72	243,40 ± 61,56
α-Амилаза, общая, Ед/л	457,40 ± 58,49	448,80 ± 81,97	447,40 ± 90,42
Глюкоза, ммоль/л	4,84 ± 1,06	4,62 ± 0,73	4,82 ± 0,66
ЛДГ, ЕД/Л	1060,00 ± 324,2	1044,40 ± 340,42	992,40 ± 128,02

Проанализировав результаты биохимических исследований на 46 и 56 сутки опыта, не выявили статистически достоверных изменений показателей крыс опытных и контрольной групп.

Таблица 27 - Биохимические показатели сыворотки крови крыс через 10 дней после последнего нанесения препарата (n=5)

Показатель	Контрольная группа	Дозы, мл/кг	
		7,5	5
Билирубин общ., мкмоль/л	4,04 ± 0,44	4,34 ± 1,09	4,70 ± 1,05
Билирубин прям., мкмоль/л	1,04 ± 0,30	0,58 ± 0,24	0,94 ± 0,26
АСТ, Ед/л	182,63 ± 22,08	178,00 ± 13,68	169,80 ± 20,12
АЛТ, Ед/л	62,60 ± 4,26	63,20 ± 5,07	59,20 ± 5,22
Мочевина, ммоль/л	6,26 ± 1,51	5,17 ± 0,71	5,78 ± 1,30
Креатинин, мкмоль/л	52,00 ± 3,40	53,00 ± 10,01	56,20 ± 7,82
Общий белок, г/л	64,80 ± 5,65	67,40 ± 5,38	65,60 ± 4,69
ЩФ, Ед/л	230,20 ± 48,27	256,40 ± 52,41	241,00 ± 44,38
α-Амилаза, общая, Ед/л	506,20 ± 84,97	462,80 ± 47,75	464,80 ± 100,38
Глюкоза, ммоль/л	4,34 ± 0,81	4,92 ± 0,27	4,64 ± 0,98
ЛДГ, ЕД/Л	975,40 ± 172,86	1036,00 ± 260,43	900,80 ± 49,73

Суммируя все результаты эксперимента, можно сделать вывод, что дозы Сорболина 7,5 мл/кг и 5 мл/кг являются не токсичными.

Изучение аллергизирующих свойств Сорболина проводили на 20 морских свинках.

Животные были разделены на опытную и контрольную группы по 10 голов в каждой. Морским свинкам опытной группы разведенный водой Сорболин выпаивали в дозе 1,5 мл на 300 г, что соответствовало 5 мл препарата на 1 кг массы в течение 20 суток.

Тестировали животных через 10 дней после сенсibilизации: проводили эпикутанную, конъюнктивальную и назальную пробы.

Для постановки конъюнктивальной пробы 1 каплю препарата вводили глазной пипеткой под верхнее веко животным опытной и контрольной групп, во второй глаз (контрольный) вводили 1 каплю воды. Реакцию учитывали через 15 мин (быстрая реакция) и через 24-48 часов (гиперчувствительность замедленного типа) и оценивали в баллах:

- 0 – отсутствие видимой реакции;
- 1 - легкое покраснение слезного протока;
- 2 – покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице;
- 3 - покраснение всей конъюнктивы и склеры, зуд, развитие гнойного офтальмита.

Для постановки накожной пробы морским свинкам наносили 3 капли препарата на выстриженный участок кожи спины (1x1 см). Реакцию учитывали сразу после нанесения препарата, а также через 15, 30 минут, 24 и 48 часов.

При постановке назальной пробы препарат закапывали в носовые ходы сенсibilизированным и контрольным морским свинкам. Оценивали состояние слизистой оболочки: набухание, покраснение слизистой оболочки, усиление слезоотделения.

При постановке конъюнктивальной пробы сразу после закапывания препарата у контрольных и опытных животных отмечали сужение глазной

щели примерно в течение 3-4 минут, однако покраснения слизистой и отека не отмечали. Также не было отмечено каких-либо изменений сосудистого рисунка конъюнктивы глаз или ее гиперемии во все периоды наблюдений. Реакция теста была отрицательной.

Эпикутанное тестирование. Кожных реакций гиперчувствительности немедленного и замедленного типа не отмечали как у сенсibilизированных, так и у несенсибилизированных (контрольных) животных. По характеру кожной реакции: цвету кожи (отсутствие гиперемии) и толщине кожной складки (отсутствие инфильтрации) тестируемые участки не отличались у животных опытной и контрольной групп. Реакция была оценена в 0 баллов – видимой реакции нет.

При постановке провокационной назальной пробы установлено, что закапывание Сорболина в носовые ходы сенсibilизированным и контрольным морским свинкам не вызвало гиперемии слизистой оболочки, чихания и усиления секреции слизи. Реакция теста была отрицательной.

Таким образом, в результате проведенных исследований были изучены токсикологические свойства препарата Сорболин на лабораторных животных.

При накожном нанесении белым крысам LD_{50} Сорболина составила более 14850 мг/кг. При пероральном введении белым мышам максимально возможная доза 1 мл/20 г не вызвала гибели животных, т.о., LD_{50} Сорболина превышает 50 мл/кг.

Сорболин не оказывает раздражающего действия на кожу крыс при однократном и многократном применении.

В субхроническом опыте было установлено, что дозы 7,5 мл/кг и 5 мл/кг являются не токсичными при нанесении 2 раза в день в течение 45 суток.

Определение острой токсичности Сорболина было проведено также кроликах и на козах заанненской породы (рис. 27).



Рисунок 27 - Выпаивание суспензии Сорболина козам заанненской породы

Козам и кроликам однократно выпаивали суспензию Сорболина, в 250 раз превышающую расчетную профилактическую дозу препарата (750 г растворенного в 1 л воды препарата).

Никаких патологических изменений клинического состояния животных не обнаруживали.

Таким образом, согласно общепринятой гигиенической классификации Сорболин относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные), как для лабораторных, так и для сельскохозяйственных животных.

2.2.7. Определение эффективной дозы Сорболина при желудочно-кишечных болезнях телят

Для определения **профилактической дозы** Сорболина при кишечных инфекциях телят в неблагополучном по сальмонеллезу и эймериозу хозяйстве были сформированы 5 групп телят по 10 голов в каждой в возрасте 2-3 дней – 4 опытных и 1 контрольная.

Телята опытных групп получали Сорболин 1 раз в день в течение 14 дней с молоком в следующих дозах, г/гол: 1,0; 3,0; 5,0 и 10,0.

Телята контрольной группы не получали никаких препаратов.

Для изучения влияния Сорболина в динамике на морфологический состав крови и иммунологический статус организма, у телят опытных и контрольных групп брали кровь из яремной вены – до начала опыта, на 7 и 14 дни для гематологических исследований.

Для изучения микрофлоры кишечника проводили бактериологические исследования фекалий телят опытных и контрольных групп также на 7 и 14 дни опыта.

Телята находились под ежедневным клиническим наблюдением в течение 20 дней, при этом учитывалось проявление клинических признаков расстройства пищеварения (табл. 28).

Таблица 28 - Профилактическая эффективность Сорболина при кишечных инфекциях телят

Группа животных	Кол-во животных	Доза, г/гол	Заболело		Профилактическая эффективность, %
			голов	%	
I опытная	10	1	2	20	80
II опытная	10	3	0	1	90
III опытная	10	5	0	0	100
IV опытная	10	10	0	0	100
Контрольная	10	-	7	70	-

В результате проведенных исследований было установлено, что использование Сорболина в дозе 3 г 1 раз в день в течение 14 дней обеспечивало высокий профилактический эффект при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят (90 %). В данной группе клиническая картина диареи проявилась у 1 теленка на 5 день жизни. Через 2 суток общее состояние теленка улучшилось и клиническая картина диареи исчезла.

Все животные опытных групп за весь период наблюдения хорошо развивались. У телят опытных профилактических групп привесы составили $350,0 \pm 50$ г в сутки. В контрольной группе привесы были в пределах 80 ± 22 г.

В контрольной группе телят клиническая картина диареи наблюдалась у всех животных в 1-3 сутки с начала постановки опыта, продолжительность болезни составила 6 дней.

Анализируя лейкограмму телят опытных и контрольной групп, можно отметить, что гематологические показатели у всех телят перед экспериментом были соответствовали физиологической норме.

У телят опытных групп наблюдалось увеличение числа эозинофилов, моноцитов и высокий уровень сегментоядерных нейтрофилов, что свидетельствует о более стабильном клиническом состоянии телят опытных групп, по сравнению с контролем.

У телят контрольной группы на 7 сут исследований отмечали лимфоцитоз, свидетельствующий о начале острого инфекционного заболевания.

У новорожденных телят опытных и контрольной групп до начала постановки опыта концентрация Ig соответствовала возрастной норме.

У телят опытных групп на 7 и 14 дни исследований отмечался более высокий уровень IgG, по сравнению с контролем, что связано со стимуляцией гуморального иммунитета телят опытных групп Сорболином.

У телят опытных групп происходило быстрое заселение кишечного тракта лакто- и бифидобактериями. Бактерии-компоненты препарата Сорболин хорошо приживлялись в кишечнике телят и уже на 3 день исследований выделялись в высоких концентрациях от всех животных опытных групп.

Энтеропатогенные бактерии у телят опытных групп не обнаруживались.

В контрольной группе телят заболеваемость составила 70%. При исследовании фекалий у 3 животных были выделены энтеропатогенные *E. coli*. Содержание условно-патогенных бактерий во все дни исследований было выше нормы, на фоне дефицита лакто- и бифидобактерий. На 14 день исследований нормализации состава кишечной микрофлоры у телят не происходило, а наблюдалось даже увеличение количества *P. vulgaris* и *C. freundii*, болезнь протекала с признаками диареи и обезвоживания организма.

Таким образом, применение Сорболина для профилактики кишечных

инфекций телят предотвращает интенсивное размножение условно-патогенных и патогенных микроорганизмов и способствует размножению полезной микрофлоры.

Эффективная профилактическая доза Сорболина составляет 3 г при даче препарата с молоком 1 раз в день 14 дней подряд. Профилактическая эффективность при такой схеме применения препарата составила 90%.

Для определения эффективной дозы Сорболина, применяемого в комплексе мероприятий **при лечении животных**, сформировали 3 опытных группы телят 2-5- дневного возраста по 10 голов в каждой, у которых отмечались признаки диареи. Животным выпаивали разведенный кипяченой водой Сорболин 2 раза в день в течение 7 дней в дозах 5,0; 10,0 и 15,0 г. Телят контрольной группы лечили антибактериальными препаратами.

За телятами вели наблюдение в течение 20 дней с начала постановки опыта (табл. 29).

Таблица 29 - Эффективность Сорболина при лечении новорожденных телят с кишечными инфекциями

Группа животных	Кол-во животных	Доза, г/гол	Выздоровело		Продолжительность болезни, дн.	Сохранность животных, %
			голов	%		
I опытная	10	5	10	100	5	100
II опытная	10	10	10	100	3	100
III опытная	10	15	10	100	5	100
Контрольная	10	-	8	80	7	80

Клинический контроль за больными телятами показал, что сохранность животных, получавших Сорболин, составила 100%.

Заболевание у телят опытных групп протекало в более легкой форме, чем у контрольных животных, длительность болезни составила 3-5 дней, тогда как в контрольной группе клинические признаки диареи наблюдались в течение 7 дней.

Наиболее эффективной терапевтической дозой Сорболина является 10 г при даче препарата 2 раза в день в течение 7 дней.

В контрольной группе, где телят лечили антибиотиками, выздоровело 8 голов, 2 головы пали.

У больных телят до начала постановки опыта наблюдалась эозинопения, свидетельствующая об острой интоксикации организма. К 7 дню наблюдения у телят опытных групп отмечена тенденция к увеличению количества эозинофилов, но даже к концу эксперимента число эозинофилов было ниже нормы, что объясняется их разрушением в результате интоксикации организма. У животных контрольной группы, которых лечили антибиотиками, уровень эозинофилов был ниже, чем у животных опытных групп. Это можно объяснить более продолжительной интоксикацией организма, так как телята этой группы болели в два раза дольше, чем телята опытных групп.

К моменту выздоровления в лейкограмме животных всех опытных групп было установлено повышение числа моноцитов, при одновременном увеличении числа эозинофилов, нормализация уровня лимфоцитов и нейтрофилов, тогда как в контрольной группе, по мере развития заболевания, число лимфоцитов возрастало, достигая максимума к 7 дню наблюдения.

Использование Сорболина для лечения телят при кишечных инфекциях вызывало нормализацию состава крови.

Таким образом, сохранность больных животных, которым скармливали Сорболин, составила 100%, при даче препарата 2 раза в день, в течение 7 дней в дозе 10 г.

2.2.8. Эффективность применения Сорболина при сальмонеллезе, микотоксикозе и эймериозе крупного рогатого скота

Применение Сорболина при сальмонеллезе, микотоксикозе и эймериозе крупного рогатого скота проводили в неблагополучных по данным болезням хозяйствах.

Применение Сорболина при сальмонеллезе телят. Было создано 2 группы больных сальмонеллезом телят – опытная (12 гол) и контрольная (8 гол), в возрасте 15-20 дней, у которых при жизни из фекалий ветеринарной

лабораторией была выделена *S.dublin*.

Телятам опытной группы 2 раза в день с молоком выпаивали по 10 г Сорболина в течение 7 дней, телят контрольной группы лечили антибиотиками тетрациклинового ряда, т.к. выделенные сальмонеллы были чувствительны к тетрациклину.

За животными вели наблюдение в течение 14 сут. (табл. 30).

Таблица 30 - Сохранность телят при сальмонеллезе

Группа животных	Кол-во голов	Длительность течения болезни, дней	Сохранность, %
Опытная	20	2-3	100
Контрольная	20	5-7	80

Сохранность телят опытной группы составила 100%, в контрольной группе 2 теленка пали с признаками интоксикации организма.

Улучшение общего состояния телят опытной группы отмечалось на 2-ой день с начала применения Сорболина.

Применение Сорболина при микотоксикозах коров дойного стада.

Одними из наиболее опасных продуцентов токсинов, вызывающих микотоксикозы у крупного рогатого скота, являются плесневые грибы – Аспергиллы, Фузарии, Пенициллы и др., продуцирующие такие токсины, как Охратоксин, Афлатоксин В1, Афлатоксин М1, Фумитоксин, Токсин Т2, Вомитоксин, Цитринин, Зеараленон и др.

Особенно часто микотоксикозы развиваются у телят на дорастивании и у дойных коров и в зимнее-весенний период, когда в корм используется сенаж низкого качества.

Известно, что при обнаружении в кормах нескольких видов микотоксинов, может проявиться феномен синергического взаимодействия, когда патологический эффект двух и более микотоксинов гораздо сильнее, чем эффект от каждого отдельно взятого токсина.

В неблагополучном по микотоксикозам хозяйстве Тверской области из сенажа были выделены плесневые грибы рода *Aspergillus* и *Fusarium*, а также

микотоксины нескольких видов, которые лаборатория не смогла идентифицировать.

У коров дойного стада отмечали снижение аппетита, вялость, понос, снижение надоев, рождение телят-гипотрофиков, которые в дальнейшем плохо развивались и часто заболели кишечными инфекциями в первые дни жизни.

При вынужденном убое животных обнаруживали дистрофию печени, неестественную ее окраску; поражение почек и слизистой кишечника.

В НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии (г. Витебск, РБ) установили, что трепел Хотимский обладает выраженной адсорбцией в отношении афлатоксина, Т-2 токсина, охратоксина, сорбируя эти токсины на 87-100%. В отношении зеарараленона, дезоксиниваленола и фумонизина была установлена сорбционная активность трепела на уровне 65-70%.

Учитывая данную информацию, нами были созданы 2 группы коров – опытная (30 гол) и контрольная (20 гол). Опытным коровам ежедневно с кормом скармливали Сорболин 1 раз в день в дозе 20 г в течение 30 дней. Коровам контрольной группы скармливали энтеросорбент на основе диоксида кремния 1 раз в день, в дозе 10 г, в соответствии с инструкцией по применению.

Наблюдения за животными вели в течение 40 сут. Учитывали общее состояние животных, аппетит, количество надоев на каждую корову (табл. 31).

Таблица 31 - Эффективность Сорболина при микотоксикозе коров

Группа животных	Кол-во голов	Применяемые кормовые добавки	Улучшение общего состояния организма	Восстановление функций организма
Опытная	30	Сорболин	На 5 день	На 10 день
Контрольная	20	Диоксид кремния	На 10-15 день	На 20-30 день

Было установлено, что через 5 дней с начала постановки опыта у боль-

ных коров опытной группы наблюдалось заметное улучшение аппетита, коровы стали более активны, уровень надоев повысился и к концу опыта достиг показателей клинически здоровых животных. К 10 дню с начала постановки опыта все коровы опытной группы выглядели клинически здоровыми.

У коров контрольной группы к 10 дню исследований заметного улучшения общего состояния не отмечалось.

Применение Сорболина при эймериозе телят. Больных эймериозом телят в возрасте 3-4 месяцев разделили на 2 группы – опытную и контрольную, по 15 голов в каждой.

Телятам опытной группы ежедневно 1 раз в день выпаивали с водой по 20 г Сорболина в течение 10 дней. Телят контрольной группы лечили кокцидиостатиком «Байкокс» в соответствии с инструкцией по применению.

До начала постановки опыта и через 5 и 10 дней после начала опыта, у всех телят опытной и контрольной групп отбирали соскобы со слизистой оболочки прямой кишки, обрабатывали материал по методу Фюллеборна и подсчитывали количество эймерий в 10 полях зрения. Опыты проводили в трехкратной повторности (табл. 32).

Таблица 32 - Эффективность Сорболина при эймериозе телят

Группа животных	Кол-во голов	Применяемые препараты	Наличие паразитов в фекалиях телят в дни исследований		
			3 день	5 день	10 день
Опытная	15	Сорболин	+	+/-	-
Контрольная	15	Байкокс	+	+	+

Было установлено, что среднее количество эймерий в 10 полях зрения у телят опытной и контрольной групп до начала постановки опыта составляло 235 шт.

У телят опытной группы на 5-й день исследований количество паразитов сократилось в 12 раз, на 10 день эймерии в соскобах не были обнаружены.

У телят контрольной группы на 5-й день исследований количество эй-

мерий сократилось в 5 раз, на 10 день исследований – в 9 раз.

Таким образом, пробиотик-энтеросорбент Сорболин при лечении телят, больных сальмонеллезом, способствует 100%-ной сохранности животных, при даче препарата телятам с молоком 2 раза в день в течение 7 дней в дозе 10 г.

Для выведения из организма коров микотоксинов при добавлении в корма Сорболина из расчета 20 г на голову и даче препарата 1 раз в день в течение 30 дней, к 10 дню с начала постановки опыта клинические признаки микотоксикозов исчезают.

При лечении телят, больных эймериозом, применение Сорболина 1 раз в день в течение 10 дней, в дозе 20 г способствует освобождению кишечника от паразитов.

2.2.9. Определение экономической эффективности применения Сорболина при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят, в сравнительном аспекте

На базе АО «Холдинговая компания – агрофирма «Россия» Тимашевского района Краснодарского края были проведены исследования по определению эффективности пробиотика-энтеросорбента Сорболина и пробиотической кормовой добавки Олин в сравнительном аспекте при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят.

Сорболин и Олин являются препаратами-аналогами, т.к. содержат лиофильно высушенные культуры штаммов *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135.

Различия в составе компонентов препаратов состоит в том, что Сорболин, кроме бацилл, содержит 50% Хотимского трепела и 50% лактозы, а Олин содержит только лактозу (до 100%).

Стоимость лактозы в 4 раза выше, чем Хотимского трепела, поэтому Сорболин значительно дешевле, чем Олин.

Для оценки эффективности препаратов Сорболин и Олин в сравнитель-

ном аспекте при болезнях новорожденных телят, протекающих с диарейным синдромом, из новорожденных телят-аналогов 2-3-дневного возраста, у которых отмечались признаки диареи (проффузный понос, угнетенное состояние, обезвоживание организма) были сформированы 3 группы – 2 опытных и 1 контрольная, по 10 голов в каждой.

Препараты давали телятам перорально, 1 раз в день, 7 дней подряд, по 3 г на голову.

Телят контрольной группы лечили антибиотиками тетрациклинового ряда согласно инструкции по применению.

Период наблюдения за животными составил 14 дней.

До начала постановки опыта и на 5 и 10 дни с начала эксперимента от телят опытных и контрольной групп для проведения бактериологических исследований брали пробы фекалий и определяли количественный и качественный состав кишечной микрофлоры.

Телята опытных и контрольной групп находились под ежедневным клиническим наблюдением. Учитывали характер проявления клинических признаков, продолжительность болезни (табл. 33).

Таблица 33 - Эффективность применения Сорболина и Олина при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят

№ п/п	Группы животных	Количество голов	Доза, г	Продолжительность курса, дн.	Сохранность, гол	Длительность заболевания, дн.	Эффективность, %
1	I опытная (Сорболин)	10	3	7	10	2	100
2	II опытная (Олин)	10	3	7	10	4	100
3	Контрольная	10	-	-	8	12	80

Клинический контроль за телятами опытных групп показал, что эффективность применения препаратов Сорболин и Олин составила 100%.

Заболевание у телят в опытных группах протекало в более легкой форме, чем у контрольных животных.

У телят, получавших Сорболин, продолжительность болезни была в 2 раза короче, чем у телят, получавших Олин, и в 6 раз короче, чем у телят контрольной группы.

Для изучения количественного и качественного состава микрофлоры фекалий телят опытных и контрольной групп с острым расстройством пищеварения определяли в фекалиях наличие патогенных, условно-патогенных и полезных микроорганизмов (табл. 34).

Таблица 34 - Результаты бактериологического исследования фекалий телят в опытных и контрольной группах

Группа животных	Сроки обследования жив., дн	Количество микроорганизмов в 1 г фекалий						
		E. coli	Proteus ssp.	Enterococcus ssp.	Enterobacter ssp.	Fusarium ssp.	Лактобактерии	Бифидобактерии
I опытная (Сорболин)	До начала опыта	10^8	10^7	10^7	10^6	10^6	10^7-10^8	10^8
	5	10^7	10^5	10^6	10^5	10^2	10^8-10^9	10^8-10^9
	10	10^8	10^5	10^5	10^4	-	10^8	10^9
II опытная (Олин)	До начала опыта	10^8	10^7	10^7	10^6	-	10^7-10^8	10^8
	5	10^7	10^5	10^6	10^4	-	10^8-10^9	10^9
	10	10^8	10^5	10^5	10^4	-	10^9	10^9
Контрольная	До начала опыта	10^8	10^7	10^7	10^7	-	10^7-10^8	10^8
	5	10^8	10^7	10^7	10^7	-	10^6-10^7	10^7
	10	10^8	10^5	10^5	10^4	-	10^5	10^6

От телят опытных и контрольной групп во все дни исследований выделяли E. coli, Proteus ssp, Enterococcus ssp., Enterobacter ssp., лактобактерии и бифидобактерии.

От телят, получавших Сорболин, выделяли также грибы *Fusarium ssp.*.

Как видно из данных таблицы 34, в 1 г фекалий телят опытных групп до начала постановки опыта отмечалось повышенное содержание *E.coli*, *Proteus ssp.*, *Enterococcus ssp.*, *Enterobacter ssp.*, уровень которых снижался до допустимой концентрации на 5 день исследований. Количество лакто- и бифидобактерий у телят в опытных группах возросло до 10^8 - 10^9 м.кл/г фекалий на 5 день исследований.

В опытной группе телят, которым давали Сорболин, обнаружены грибы *Fusarium ssp*, при этом на 5 день их количество снижалось до 10^2 м.кл/г фекалий, а на 10 день с начала постановки опыта – не обнаруживались. Эти данные подтверждают антимикробную активность Сорболина в отношении грибов, способных продуцировать микотоксины.

Бактерии-компоненты препаратов Сорболин и Олин выделялись от всех телят опытных групп на 5 день с начала постановки опыта в высоких концентрациях (10^8 - 10^9 м. кл в 1 г фекалий), однако уровень содержания этих бактерий имел тенденцию к снижению и на 10 день с начала постановки опыта бактерии-компоненты препарата выделялись в концентрации 10^4 м.кл в 1 г фекалий.

Из фекалий телят контрольной группы, которых лечили антибиотиками, были выделены *E.coli*, *Proteus ssp*, *Enterococcus ssp.*, *Enterobacter ssp.*, лактобактерии и бифидобактерии. У телят этой группы на 5 день с начала постановки опыта в фекалиях происходило снижение лакто-и бифидобактерий, в то время, как количество патогенной и условно-патогенной микрофлоры было выше физиологической нормы. На 10 день исследований нормализации состава кишечной микрофлоры у телят контрольной группы не наблюдалось из-за высокой концентрации *E.coli*.

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что применение Сорболина и Олина ведет к восстановлению нормального биоценоза пищеварительного тракта телят за счет подавления размножения и элиминации из организма патогенных и условно-патогенных бактерий и повышения

концентрации лакто-и бифидобактерий.

При этом Сорболин способствует уменьшению периода продолжительности болезни телят в 2 раза, по сравнению с Олином.

Таким образом, пробиотик-энтеросорбент Сорболин более эффективна и экономически выгодна, чем Олин.

При расчете экономической составляющей применения Сорболина и Олина при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят было установлено следующее:

- стоимость 1 кг Олина составляет 800,0 руб, Сорболина - 748,0 руб;
- стоимость курса применения Олина для профилактики желудочно-кишечных болезней телят при даче его по 3 г 1 раз в день в течение 60 дней - 144 руб, Сорболина (при аналогичном профилактическом курсе) – 134,0 руб;
- продолжительность болезни телят на фоне применения Сорболина на 2 дня короче, чем при использовании Олина, что дает дополнительную экономию в 14,9 руб на голову.

Кроме этого, применение Сорболина позволяет отказаться от использования 100% кормовых антибиотиков и витаминов группы В; 50% антибиотиков, применяемых для лечения телят при желудочно-кишечных болезнях, а также микро- и макроэлементов; 30% аминокислот и белков; 60% ферментов.

Следовательно, экономическая эффективность применения Сорболина может быть еще выше, т.к. в хозяйстве уменьшаются расходы на приобретение различных лечебно-профилактических препаратов, витаминов и премиксов, актуальность применения которых снижается при использовании Сорболина в среднем на 60%.

ГЛАВА 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

В последние годы в РФ и за рубежом активизировались научные исследования по созданию, производственным испытаниям и внедрению в ветеринарную практику пробиотических кормовых добавок и пробиотиков на основе бактерий рода *Bacillus* и энтеросорбентов-природных цеолитов.

Комбинация энтеросорбента и пробиотика является патогенетическим подходом к профилактике и лечению крупного рогатого скота при желудочно-кишечных болезнях.

Достоинством сорбционных форм пробиотических кормовых добавок является объединение микроорганизмов в микроколонии, которые фиксируются на специальном сорбенте-носителе. Десорбция микроорганизмов происходит уже в толстой кишке, где они и реализуют свое действие. Благодаря такому строению, за счет химических и электростатических сил увеличивается взаимодействие бактерий с пристеночным слоем слизистой оболочки кишечника и возрастает их антагонистическая активность. Повышается выживаемость пробиотических штаммов бактерий при прохождении через кислую среду желудка, создаются высокие локальные их концентрации на поверхности слизистой кишечника.

Сорбенты-носители адсорбируют и выводят из организма эндо- и экзотоксины, патогенные бактерии и продукты их метаболизма, что способствует ускорению репаративного процесса в слизистой оболочке кишечника. Перечисленные особенности сорбционных форм пробиотических кормовых добавок способствуют более быстрому заселению кишечника содержащимися в них бактериями по сравнению с сухими лиофилизированными формами пробиотиков.

Пробиотические препараты целесообразнее применять с превентивной целью для сохранения здоровья и стимуляции роста, развития животных и для получения экологически безопасной и качественной продукции.

Животноводы стараются подобрать для своего поголовья недорогие, но

эффективные препараты. В настоящее время ассортимент пробиотиков-энтеросорбентов достаточно обширный. Но большая его часть представлена импортными дорогими кормовыми добавками, применение которых экономически нецелесообразно.

Поэтому возникает необходимость в создании, определении антимикробной активности и внедрению в животноводство России новых отечественных пробиотических кормовых добавок-энтеросорбентов на основе отечественного сырья.

Проведя анализ отечественных и зарубежных источников литературы, мы установили, что широкое использование в медицине и ветеринарии пробиотических препаратов на основе бацилл для профилактики желудочно-кишечных болезней и в качестве альтернативы антибиотикам, подтвердило их высокую эффективность и перспективность.

Многими отечественными и зарубежными учеными доказана высокая эффективность при кишечных инфекциях и микотоксикозах энтеросорбентов на основе диоксида кремния, природных цеолитов, активированного угля и др. Среди кокцидиостатиков наиболее часто применяют Стопкокцид, Соликоккс, Кокцидиовит, Байкоккс, Торукоккс.

Однако все эти препараты имеют узконаправленное действие в отношении определенных возбудителей и их токсинов.

Тем не менее, желудочно-кишечные болезни крупного рогатого скота, как правило, развиваются на фоне смешанных инфекций, паразитозов и отравления токсинами грибов.

Поэтому, многие ученые у нас в стране и за рубежом работают над созданием лечебно-профилактических препаратов разностороннего действия.

В состав пробиотических кормовых добавок для крупного рогатого скота включают различные компоненты. В результате этого, рынок таких препаратов в РФ наиболее многообразен, в сравнении с другими странами.

По данным Сальниковой А.Г. с соавт., к наиболее востребованным отечественным производителям можно отнести такие компании как Сиббио-

фарм, Биотроф, Научно-технический центр биологических технологий в сельском хозяйстве, Биопрогресс, Компонент, Пробиотик-Плюс, Восток, Биотехагро, НОВА и др.

Из иностранных компаний на российском рынке успешно работают немецкие, бельгийские и китайские производители.

Тем не менее, по опубликованным аналитическим данным на первом месте по востребованности стоит пробиотик И-Сак, на втором – пробиотическая кормовая добавка ОЛИН, на третьем месте – Ветом.

ОЛИН относится ко II поколению пробиотических препаратов - самоэлиминирующихся антагонистов.

В последние годы возросла потребность скотоводства в пробиотических препаратах IV поколения - иммобилизованных на сорбенте живых бактерий.

Сорбированные формы пробиотических кормовых добавок содержат бактерии, иммобилизованные на частицах твердого сорбента (угли, целлюлоза, цеолиты и кремнеземы и др.). Биологическая активность таких препаратов связана с тем, что микробная масса живых пробиотических бактерий иммобилизована на сорбенте, благодаря чему они лучше выживают и быстрее заселяют кишечник, а сорбент ускоряет дезинтоксикацию и репаративные процессы.

По данным Гусейнова М.М. с соавт., энтеросорбенты, а также другие вещества с адсорбирующими свойствами, классифицируют по 8 показателям, основным из которых является показатель адсорбции.

Поэтому, наиболее широко на сегодняшний день используются энтеросорбенты на основе диоксида кремния.

По мнению белорусских ученых природные цеолиты содержат более широкий спектр полезных для организма животных набор микро-и макроэлементов и биологически активных веществ.

Так Голушко В.М. с соавт. считают, что природные цеолиты являются сравнительно новым и чрезвычайно перспективным видом полезных ископа-

емых, объемы применения которых во всем мире ежегодно растут. Особенно перспективно использование цеолитов в скотоводстве.

На территории Республики Беларусь разведано месторождение трепела в Хотимском районе Могилевской области. Этот трепел в своем составе содержит ряд макро- и микроэлементов, необходимых для жизнедеятельности сельскохозяйственных животных, а также обладает сорбционными и ионообменными свойствами.

Голушко О.Г., Козинец А.И., Линкевич С.А., Надаринская М.А., Козинец Т.Г., Новик Л.В. доказали, что Хотимский трепел при даче скоту с кормом, способствует положительной гомеостатической перестройке организма, улучшению морфофункциональных свойств форменных элементов крови и повышению концентрации минеральных веществ.

Использование в составе концентратной части рационов молодняка крупного рогатого скота трепела в количестве 1,0 и 2,0% способствует повышению среднесуточного прироста на 2,4 и 7,5% и снижению затрат кормов на получение продукции на 0,5 и 2,5%, соответственно.

По данным российских и белорусских ученых, природные цеолиты следует добавлять в корм лактирующим и сухостойным коровам, молодняку крупного рогатого скота в количестве 3-5% от сухого вещества корма.

Таким образом, Хотимский природный цеолит можно рассматривать, как наиболее перспективный для включения в состав новой пробиотической кормовой добавки IV поколения.

Для включения в состав нового пробиотического препарата-энтеросорбента IV поколения мы остановили свой выбор на Хотимском трепеле, штаммах бацилл *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135, входящих в состав пробиотической кормовой добавки ОЛИН, и лактозе.

На первом этапе исследований данные компоненты были изучены по физико-химическим и биологическим показателям.

Было установлено, что трепел месторождения «Стальное» Могилевской

области представлен тонкодисперсной полиминеральной системой, состоящей из глины (монтмориллонит – 10%), карбоната кальция (кальцит – 35 %), кремнезема (опал-кристобалит – 30%) и цеолита (клиноптилолит – 15%).

ИК-спектр Хотимского трепела был наиболее близок к смектину который является основой медицинского препарата «Смекта», широко применяемого при патологиях пищеварительного тракта детей и обладающего высокой лечебно-профилактической эффективностью.

Нами было доказано, что трепел быстро поглощает воду, вступая в конкуренцию с различными пористыми веществами.

Показатель адсорбции Хотимского трепела составил 0,8 мг/г, активная площадь адсорбции - 43,3 м²/г, объем пор - 0,104633 мл/г, средняя ширина пор - 9,76488 нм., а емкость катионного обмена – 2,3 мг-экв/г массы.

Хотимский трепел способен сорбировать из водных растворов органические кислоты, газы, органические красители, силикагель. При этом, в течение 3-5 мин водные растворы трепела с сорбированными веществами превращаются в гелеобразное состояние и удерживают адсорбированные вещества.

Было установлено, что в растворах, содержащих взвешенные компоненты трепела, питательную среду и дрожжи, жизнедеятельность микроорганизмов продолжается, а погибшие дрожжи и часть органических веществ адсорбируются из водного раствора поверхностью частиц трепела.

Особенностью трепела Хотимского является также то, что он содержит железо в усвояемой, физиологически доступной для извлечения форме. Железо Fe³⁺ и Mg²⁺, входят в состав хлорита – слоистого минерала группы смектитов, а не в состав оксида – ржавчины.

Поэтому, в организме животных трепел способен образовывать органо-минеральный комплекс хлорит-мочевину, что объясняет свойство трепела Хотимского снижать содержание мочевины в сыворотке крови животных.

Инфракрасные спектры водной суспензии трепела и трепела с мочевиной, были практически идентичны, что свидетельствует о полном связывании мочевины трепелом.

Следовательно, обладая большой активной поверхностью в желудочно-кишечном тракте, трепел способен селективно адсорбировать не только аммиак, но и углекислый газ, метан, сероводород, углеводороды, воду, фенолы, экзо- и эндотоксины, тяжелые металлы, радионуклиды, гнилостные микроорганизмы и т.д.

Проходя через желудочно-кишечный тракт, Хотимский трепел способен удалять из просвета пищеварительного тракта избыток жидкости, вредные газы, эндотоксины, благодаря чему предотвращает диарею.

Мы провели исследования антагонистической активности *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135, входящих в состав Олина, методом отсроченного антагонизма в отношении стафилококков и сальмонелл, и в сравнении с такими широко применяемыми в скотоводстве пробиотиками, как Ветом и Бактисубтил.

Мы установили, что наибольшей антагонистической активностью из изученных препаратов обладал Олин, т.к. зона отсутствия роста сальмонелл вокруг диска, смоченного суспензией препарата, составляла более 1,0 см, у Бактисубтила – 0,2 см, а Ветом оказался неактивным и зона подавления роста сальмонелл у него отсутствовала. Аналогичная картина наблюдалась и при воздействии этих трех препаратов на протей.

Мы также остановились на концентрации бацилл, применяемой в составе Олин - $2,0 \times 10^9$ микробных клеток в 1 г в споровой форме, в соотношении 1:1.

В качестве наполнителя Сорболина была отобрана лактоза производства Франции.

Нами были получены лабораторные серии пробиотика-энтеросорбента Сорболин, содержащего культуры штаммов *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135 в споровой форме, в соотношении 1:1, в количестве не менее $2,0 \times 10^9$ КОЕ/г, лактозу и Хотимский трепел по 50% к объему препарата.

В процессе определения количества бацилл в препарате при проведении

контроля качества Сорболина, нами был усовершенствован метод десятикратных разведений. По данной методике нами было проведено 255 исследований по определению КОЕ бацилл в различных пробиотических препаратах и достоверно подтверждено, что усовершенствованный метод определения количества бактерий рода *Bacillus* в Сорболине является воспроизводимым, доступным и чувствительным и позволяет учитывать до 99,5% жизнеспособных бацилл в единице объема препарата.

Данный метод был утвержден РАН.

При исследовании антимикробной активности Сорболина *in vitro* мы установили, что пробиотик-энтеросорбент Сорболин обладает высокой антибактериальной, фунгицидной и противопаразитарной активностью.

Препарат является безвредным для животных и согласно общепринятой гигиенической классификации Сорболин относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные), как для лабораторных, так и для сельскохозяйственных животных.

Профилактическая эффективность Сорболина в дозе 3 г 1 раз в день в течение 14 дней составила 90% при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят.

При комплексном лечении телят, больных сальмонеллезом и эймериозом, в опытной группе, где применяли Сорболин, сохранность животных составила 100%.

Сорболин способствовал выведению из организма коров микотоксинов, что подтверждает данные отечественных и зарубежных ученых об эффективной сорбции природными цеолитами различных ядовитых веществ и газов в кишечнике крупного рогатого скота.

Применение Сорболина в скотоводческих хозяйствах экономически выгодно, т.к. данный препарат позволяет отказаться от использования 100% кормовых антибиотиков и витаминов группы В; 50% антибиотиков, применяемых для лечения телят при желудочно-кишечных болезнях, а также микро- и макроэлементов; 30% аминокислот и белков; 60% ферментов.

ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

4.1. Выводы

1. Пробиотик-энтеросорбент Сорболин, содержащий культуры штаммов *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135 в споровой форме, в соотношении 1:1, в количестве не менее $2,0 \times 10^9$ КОЕ/г, Хотимский трепел и лактозу - по 50% к объему препарата обладает высокой антимикробной активностью в отношении бактерий, микотоксинов и кокцидий и является эффективным лечебно-профилактическим препаратом при сальмонеллезе, микотоксикозе и эймериозе крупного рогатого скота.

2. Биологические и минерально-углеводные компоненты, входящие в состав Сорболина, оказывают разностороннее действие на организм крупного рогатого скота – культуры бацилл *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135 обладают антагонистической активностью в отношении бактерий, грибов и простейших (в присутствии бацилл патогенные эшерихии, сальмонеллы и аэромонады погибают через 2 часа; количество спор Аспергил через 24 ч уменьшается в 6295 раз; количество кокцидий через 60 мин уменьшается в 3 раза); Хотимский трепел является энтеросорбентом микотоксинов и паразитов (показатель адсорбции - 0,8 мг/г, активная площадь адсорбции - $43,3 \text{ м}^2/\text{г}$, объем пор - $0,104633 \text{ мл/г}$, средняя ширина пор - $9,76488 \text{ нм.}$, емкость катионного обмена – $2,3 \text{ мг-экв/г}$ массы), лактоза - энергетический компонент и наполнитель препарата.

3. Сорболин не обладает острой и хронической токсичностью и является безопасным препаратом при введении в желудок, попадании на кожу и на слизистые оболочки лабораторных и сельскохозяйственных животных.

4. Усовершенствованный метод последовательных десятикратных разведений бактериальной суспензии при определении количества бактерий рода *Bacillus* в препарате Сорболин является доступным, воспроизводимым и чувствительным и позволяет учитывать до 99,5% жизнеспособных бацилл в

единице объема препарата при проведении контроля его качества.

5. Использование Сорболина в дозе 3 г 1 раз в день в течение 14 дней обеспечивает 90%-ный профилактический эффект при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят.

6. При лечении телят, больных сальмонеллезом, Сорболин способствует 100%-ной сохранности животных при даче препарата телятам с молоком 2 раза в день в течение 7 дней в дозе 10 г. При лечении телят, больных эймериозом, применение Сорболина 1 раз в день в течение 10 дней, в дозе 20 г способствует освобождению кишечника от паразитов.

7. При добавлении в корм лактирующим коровам Сорболина из расчета 20 г на голову и даче препарата 1 раз в день в течение 30 дней с целью выведения из организма коров микотоксинов, к 10 дню с начала постановки опыта клинические признаки микотоксикозов исчезают.

8. Экономическая эффективность применения пробиотика-энтеросорбента Сорболин выше препарата-аналога Олина, т.к. стоимость курса применения Сорболина меньше на 15,9 руб, а расходы на приобретение хозяйством антибиотиков, витаминов и премиксов могут быть снижены в среднем на 60%.

4.2. Практическое использование полученных научных результатов

1. Изучена антимикробная активность и устойчивость к антибиотикам культур штаммов *B.subtilis* ВКПМ 10172 и *B.licheniformis* ВКПМ 10135, применяемых в составе пробиотика-энтеросорбента Сорболин. В паспорта штаммов бацилл внесены изменения и штаммы депонированны в национальной коллекции DSMZ (Германия).

2. Пробиотик-энтеросорбент Сорболин на основе антагонистически активных штаммов бацилл и природных ископаемых цеолитов и углеводов, обладающих антибактериальным, противогрибным и противококцидиозным действием, может быть использован в качестве альтернативы антибиотикам и

кокцидиостатикам при сальмонеллезе, микозах, микотоксикозах и эймериозе крупного рогатого скота.

3. Установленные антимикробные и физико-химические свойства Хотимского трепела и включение его в состав Сорболина позволило придать препарату адсорбционное, ионообменное, пролонгирующее действие, пополнение рационов макро- и микроэлементами. Сорболин способен адсорбировать в кишечном тракте животных углекислый газ, аммиак, метан, сероводород, фенолы, микотоксины, тяжелые металлы, радионуклиды, гнилостные микроорганизмы. Особенностью трепела Хотимского является также то, что он содержит железо в усвояемой, физиологически доступной форме, входящей в состав минерала группы смектитов, и способен снижать содержание мочевины в сыворотке крови животных.

4. Разработаны методы контроля качества Сорболина, которые используются при производстве препарата.

5. В опытах на телятах и коровах изучена антимикробная активность и механизм действия Сорболина при сальмонеллезе, микотоксикозе и эймериозе, дана оценка влияния препарата на микробиоценоз кишечника, гомеостаз организма крупного рогатого скота, показана высокая эффективность препарата, что подтверждено актами, утвержденными руководителями хозяйств Московской обл. (ООО «Правда», Истринского района), Тверской обл. (ОАО Агрофирма «Дмитрова гора», Конаковского района) и Краснодарского края (АО «Холдинговая компания – агрофирма «Россия» Тимашевского района).

6. Разработан проект инструкции по применению Сорболина, утвержденный научно-исследовательским отделом ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина.

7. Результаты исследований использованы при разработке проектов стандарта предприятия СТО 84120471-0005-2017 «Сорболин» и Технологического регламента производства Сорболина, утвержденные генеральным директором ООО «Пробиотик-Плюс».

8. По результатам исследований разработаны и утверждены руководите-

лем Секции зоотехнии и ветеринарии Отделения сельскохозяйственных наук РАН методические рекомендации «Усовершенствованный метод определения количества бактерий рода *Bacillus* в пробиотических препаратах».

9. Разработаны и утверждены научно-исследовательским отделом ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина методические рекомендации «Экология патогенных бактерий и грибов», предназначенные для самостоятельной работы аспирантов по направлению подготовки 36.06.01 - Ветеринария и зоотехния.

10. Результаты исследований используются в учебном процессе в ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина при изучении дисциплины «Микробиология».

4.3. Рекомендации по использованию научных результатов

1. Рекомендовать пробиотик-энтеросорбент Сорболин зооветеринарным специалистам и владельцам животных в качестве профилактического средства при желудочно-кишечных болезнях телят, вызванных энтеропатогенными бактериями, грибами и кокцидиями, а также как средство заместительной терапии при сальмонеллезе, микотоксикозах и эймериозе крупного рогатого скота после использования антибиотиков и кокцидиостатиков.

2. Методические рекомендации «Усовершенствованный метод определения количества бактерий рода *Bacillus* в пробиотических препаратах», утвержденные РАН РФ, рекомендуется использовать на биопредприятиях при определении КОЕ бацилл в пробиотических и вакцинных препаратах.

3. Для профилактики сальмонеллеза и других бактериальных кишечных инфекций телят рекомендуется использовать Сорболин в дозе 3 г 1 раз в день в течение 14 дней с водой или с кормом. Для лечения больных телят Сорболин необходимо применять 2 раза в день, в течение 7 дней в дозе 10 г.

4. Для профилактики и лечения коров и телят при микотоксикозах рекомендуется применять Сорболин с кормом или водой из расчета 20 г на го-

лову, при даче препарата 1 раз в день в течение 30 дней.

5. При эймериозе телят рекомендуется использовать Сорболин 1 раз в день в течение 10 дней в дозе 20 г на голову.

6. Результаты исследований рекомендуется использовать в учебном процессе в высших учебных заведениях по направлениям подготовки «Ветеринария» и «Зоотехния».

ГЛАВА 5. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева А.В. Новые экологически безопасные препараты в ветеринарной практике /Андреева А.В., Николаева О.Н. // Российский электронный журнал. – 2016. – 3 (21). – С. 266-283.
2. Артемов И. Использование цеолитсодержащих пород в рационах коров / И. Артемов, Р. Черных, В. Пепелина // Молочное и мясное скотоводство. - 2001.- № 6. - С. 22-23.
3. Бикташев Р.У. Удельная поверхность минеральных энтеросорбентов / Р.У. Бикташев // Биотехнология: токсикологическая, радиационная и биологическая безопасность России: материалы Международ. науч.-практ. конф., посвященной 50-летию Федерального Центра токсикол. и радиац. безопасности. Казань, 2010. – С. 309–311.
4. Белекова В.И. Минеральные подкормки. Использование бентонитов в кормлении высокопродуктивных коров // В.И. Белекова, А.Н. Булатов, А.И. Хлопин //Современные проблемы ветеринарной диетологии и нутрициологии: матер.второго междунаро. симпозиума (22–24 апреля 2003 г). – Спб, 2003. – С. 92–94.
5. Белкин Б.Л. Ветеринарно-гигиеническое обоснование применения цеолитов хотынецкого месторождения в кормах для животных / Б.Л. Белкин, Р.И. Тормосов, Г.Я. Казначеева // Достижения аграрной науки в решении экологических проблем Центральной России. – Орел.- 1999. - С.15-16.
6. Белкин Б.Л. Использование хотынецких природных цеолитов в ветеринарии и птицеводстве / Белкин Б.Л., Кубасов В.А. // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2011. – 6 (11). – С. 35-38.
7. Бондарев Е.В. Применение энтеросорбентов в медицинской практике /Е.В. Бондарев, С.Ю. Штрыголь, С.Б. Дырявый //Провизор.-Электронный ресурс.- 2008.- №13.- Режим доступа: <http://www.provisor.com.ua/archive/2008/№13>.
8. Василевич С.Ф. Антимикробная активность минерально-углеводной

кормовой биодобавки для телят / С.Ф. Василевич // Ветеринария, зоотехния и биотехнология.- 2017.- № 1.- С. 97-99.

9. Василевич С.Ф. Биологические свойства пробиотической минерально-углеводной кормовой добавки «Сорболин» и ее компонентов / С.Ф. Василевич // Ветеринария, зоотехния и биотехнология.- 2017.- № 8.- С. 56-62.

10. Вильвер Д. С. Качественные показатели молочной продуктивности коров черно-пестрой породы и продуктов переработки при использовании в рационах энергетической кормовой добавки // Научно-методический электронный журнал «Концепт». – 2017. – Т. 31. – С. 1351–1355. – URL: <http://e-koncept.ru/2017/970285.htm>.

11. Гаев П.А. Энтеросорбция как метод эфферентной терапии / П.А. Гаев, О.Ф. Калев, А.В. Коробкин.- Челябинск: ЧелГМА.- 2001. - 56 с.

12. Гамидов М. Цеолиты - эффективная кормовая добавка при выращивании телят / М. Гамидов // Молочное и мясное скотоводство. - 2002. - № 6. - С. 18-19.

13. Гамидов М.Г. Безвредность природных цеолитов Среднего Приамурья / М.Г. Гамидов // Достижения науки и техники АПК. - 2003. - № 2. - С. 24-25.

14. Гревцев А.А. Физиологическое обоснование применения хотынецких природных цеолитов в кормлении крупного рогатого скота (влияние на физиологические показатели и продуктивность): Автореф. дис.канд. биол. наук / Орлов. гос. аграр. ун-т. - Орел, 2002. - 20 с.: табл.

15. Голушко О.Г. Корм минеральный «Хотимский» в рационах сельскохозяйственных животных: рекомендации / О.Г. Голушко, А.И. Козинец, С.А. Линкевич и др.- Жодино: РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству».- 2013.- 16 с.

16. Горбунов А.И. Природные цеолиты / А. Горбунов // Животноводство России. - 2003. - № 2. - С. 21.

17. ГОСТ 52249-2009 Правила производства и контроля качества лекарственных средств.- М.: Федеральное агентство по техническому регули-

рованию и метрологии. - 2009. - 246 с.

18. Гриценко Е.Н. Применение препарата «Энтеросгель», обладающего сорбционно-детоксикационным действием, в комплексном лечении заболеваний органов ЖКТ / Е.Н. Гриценко, Ю.Н. Шевченко, В.Г. Семенов // Провизор.- 2001. - № 2. - Т 5. - 37 с.

19. Государственная Фармакопея Российской Федерации.- М.: Министерство здравоохранения РФ.- 2015.- XIII изд. – Т. 1.- 1470 с., Т. 2.- 1004 с., Т. 3.- 1294 с.

20. Григорьева Т.Е. Применение цеолитсодержащего трепела в животноводстве / Т.Е. Григорьева // Зоотехния. - 1997. - № 7. - С. 14-15.

21. Грязнева Т.Н. Усовершенствованный метод определения количества бактерий рода *Bacillus* в пробиотических препаратах: методические рекомендации / Грязнева Т.Н., Василевич С.Ф.- М.: ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И. Скрябина.- 2015.- 14 с.

22. Грязнева Т.Н. Приготовление пробиотической кормовой добавки КД-5 / Грязнева Т.Н. Смирнова Е.А. // Клиническое питание.- 2007.- № 1-2.- С. 66-67.

23. Грязнева Т.Н. Эффективность применения пробиотика СОРБОЛИН при инфекционных болезнях животных / Т.Н.Грязнева, С.Ф. Василевич //Прикладная микробиология.- 2014.- № 3.- С. 28-31.

24. ГрязневаТ.Н. Антимикробная активность Сорболина *in vitro* в отношении бактерий, грибов и простейших, вызывающих кишечные инфекции у телят / Т.Н. Грязнева, С.Ф. Василевич, А.Я. Шайбель // Ветеринария, зоотехния и биотехнология.- 2017.- № 9.- С. 77-80.

25. Гусейнов М.М. Энтеросорбция при острых кишечных инфекциях молодняка крупного рогатого скота / Гусейнов М.М. // Ветеринарная медицина.- 2012.- № 3-4. – С. 70-71.

26. Дабахова Е.В., Забегалов Н.В. Изучение кремнесодержащих препаратов // Агрохимический вестник.- 2011.- № 2 – С. 26-28.

27. Девришов Д.А. Доклинические испытания препарата «Полисорбин»

/Девришов Д.А., Гусейнов М.М. //Ветеринарная медицина.- 2013.- № 2.- С. 25-28.

28. Добавка кормовая Хотимская в рационах молодняка крупного рогатого скота /Козинец А.И., Надаринская М.А., Голушко О.Г., Козинец Т.Г., Новик Л.В.// Зоотехническая наука Беларуси. – 2012. -№ 2. – С. 113-121.

29. Дорохин Э.Ю. Использование пробиотика нового поколения «АТЫШ» в кормлении сухостойных коров /Дорохин Э.Ю., Чепелев Н.А., Дорохина Э.Э. // Актуальные вопросы инновационного развития агропромышленного комплекса. – 2016. – С. 34-39.

30. Ермоленко Е.И. Иммуномодулирующее действие пробиотических бактерий при заболеваниях желудочно-кишечного тракта / Е.И. Ермоленко // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2014. - Сер. 11. - Вып. 4. - С. 5-18.

31. Жуков И.В. Влияние природных цеолитов на резистентность организма животных / И.В. Жуков, В.А. Андросов // Ветеринария. - 2001. - № 5. - С. 49-51.

32. Задин Р.Р. Новый комбинированный энтеросорбент / Р.Р. Задин, Г.П. Вдовина, В.Г. Фотеев // Фармация и общественное здоровье: Материалы ежегодной конф.- Екатеринбург: ЕГУ.- 2010. - С. 234-236.

33. Иванова Е.Б. Механизм образования наноструктурированного комплекса КФБЭ, обуславливающего антагонистическую активность бацилл-компонентов пробиотика КД-5 / Иванова Е.Б., Грязнева Т.Н., Смирнова Е.А. // Нанотехнологии и охрана здоровья.- 2009.- № 3 (1).- Т. 1.-С. 52-54.

34. Иванов А.В. О проблеме микотоксикозов в животноводстве / А.В. Иванов, М.Я. Трemasов, К.Х. Папуниди // Актуальные проблемы ветеринарной медицины. – 2010. – С. 194–202.

35. Использование трепела в качестве наполнителя премиксов для крупнорогатого скота /Козинец А.И., Надаринская М.А., Голушко О.Г., Козинец Т.Г., Новик Л.В. // Зоотехническая наука Беларуси. – 2013. - № 1. – С. 291-299.

36. Изменение минерального состава крови телят (2-6 мес.) при использовании трепела месторождение «Стальное» Хотимского района Могилевской области /Гринь М.С., Козинец А.И., Голушко О.Г., Надаринская М.А. // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 3-1. – С. 23-27.
37. Карбопект - новый комбинированный энтеросорбент / Р.Р. Задин, Г.П. Вдовина, В.Г. Фотеев и др. // Фармация. - 2010. - № 2. - С. 34-36.
38. Каулина И.В. Разработка лекарственной формы композиционного сорбента для лечения хронической почечной недостаточности / И.В. Каулина // Молодая фармация: Сб. научн. работ студентов и аспирантов.- СПб.: изд-во СПХФА, 2000. - Вып. 3 - С. 27-35.
39. Кислякова Е.М. Эффективность использования природных сорбентов в кормлении коров-первотелок /Кислякова Е.М., Березкина Г.Ю. // Вестник башкирского государственного аграрного университета. – 2016. – № 2 [38]. – С. 47-50.
40. Корм минеральный «Хотимский» в рационах сельскохозяйственных животных: рекомендации /В.М. Голушко, А.И. Козинец, С.А. Линкевич и др.- Жоди́но: РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству.- 2013.- 16 с.
41. Липатникова И.А. Разработка состава геля Полисорба и его биофармацевтическая оценка /И.А. Липатникова, В.И. Решетников //Фармация.- 2004.- № 3.- С. 34-35.
42. Липатникова И.А. Биофармацевтическое исследование геля и полисорба / И.А. Липатникова, Н.Н. Пospelова, В.И. Решетников // Вузы и регион: Матер, межвуз. науч. -практ. конф. Пермь: ПГФА.- 2002. - С. 69-70.
43. Макаренко Л.Я. Использование силоса, обогащенного цеолитом, в рационах коров / Л.Я. Макаренко // Зоотехния. - 2002. - № 11. - С. 13-14.
44. Макаренко Л.Я. Доступность для бычков минеральных веществ из цеолита / Л.Я. Макаренко // Зоотехния. - 2003. - № 5. - С. 13-14.
45. Макаренко, Л.Я. Цеолит – источник минеральных веществ для мо-

лодняка / Л.Я. Макаренко // Молочное и мясное скотоводство. - 2003. - № 7. - С. 24-25.

46. Маев И.В. Аспекты клинического применения энтеросорбента Неосмектин. РМЖ. / И.В. Маев, А.А. Самсонов, Н.Н. Голубев // Болезни органов пищеварения.-2008.- № 2.- С. 62-64.

47. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Монография под ред. А.А. Чуйко. – Киев: Наукова думка, 2003. – 415 с.

48. Механизм антимикробного действия пробиотиков на основе бактерий рода *Bacillus* / Т.Н. Грязнева, Е.А. Смирнова, П.А. Игуменцев, С.Ф. Василевич // Труды ВИЭВ.- 2016.- Т. 79.- С. 128-136.

49. Морфофункциональные свойства крови при скормливании трепела месторождения «Стальное» /Надаринская М.А., Козинец А.И., Голушко О.Г., Козинец Т.Г. // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «знак почета» Государственная академия ветеринарной медицины». – 2013. – №2-1. – С. 214-218.

50. Ноздрин Г.А. Теоретические и практические основы применения пробиотиков на основе бацилл в ветеринарии / Г.А. Ноздрин // Вестник НГАУ. – 2011.- Т.6.- С.122-124.

51. Орлова Т.И. Пробиотики – перспектива животноводства /Орлова Т.И., Дорофеев Р.В. // Аграрная наука – сельскому хозяйству. – 2017. – С. 177-180.

52. Опыт выращивания телят с применением пробиотика Споробактерина /Алексеев И.А., Волков А.М., Иванова Р.Н., Ефимова И.О. // Аграрный вестник Урала. – 2015. - №2 (132). – С. 12-15.

53. Оценка эффективности распространенных энтеросорбентов при интоксикации хлорированным углеводородом фосфорорганическими соединениями / Д.П. Елизаров, А.И. Елькин, Г.А. Терехин и др. // Токсикол. вестн. 2001. - № 5. - С. 14-16.

54. Панин А.Н. Пробиотики в животноводстве - состояние и перспективы /А.Н. Панин, Н.И. Малик, О.С. Илаев //Ветеринария.- 2002.- № 4.- С. 3-8.

55. Палий Н.Г. Применение детоксиканта «Энтеросгель» для лечения заболеваний органов ЖКТ / Н.Г. Палий, И.Г. Резниченко // Новости медицины и фармации.- 2004. - № 9 (149). – С. 8.

56. Патент РФ 2180230, «Энтеросорбент». МКП7 А 61 К 35/78, А 61 Р 1/00, 39/00 / В.Г. Фотеев, Г.П. Вдовина, Р.Р. Задин и др.; заявитель и патентообладатель - ЗАО «Медисорб». № 2000100467/14; заявл. 10.01.2000; опубл. 10.03.2002, Бюл № 7.

57. Патент РФ 2180231, «Энтеросорбент». МКП7 А 61 К35/78// (А61 К 35/78, 33:44), А 61Р 1/00, 17/00 / В.Г. Фотеев, Г.П. Вдовина, Р.Р. Задин и др.; заявитель и патентообладатель ЗАО «Медисорб».- № 2000100751/14; заявл. 10.01.2000; опубл. 10.03.2002, Бюл № 7.

58. Папуниди К.Х. Патогенетические аспекты применения сорбентов в районах экологического неблагополучия / К.Х. Папуниди // Учёные зап., КГАВМ. – Казань, 2005. – Т. 181. – С. 174–180.

59. Папуниди К.Х. Применение цеолитов для коррекции нарушения обмена веществ и содержания тяжелых металлов в организме животных / К.Х. Папуниди // Ветеринарный врач. – 2008. – № 1. – С. 13–16.

60. Подъяблонский С.М. Нетрадиционные кормовые добавки в животноводстве /С.М. Подъяблонский //Достижения науки и техники АПК. - 2002. - № 11. - С. 19-21.

61. Пробиотики в животноводстве /Левахин В.И., Ласыгина Ю.А., Харламов А.В., Ворошилова Л.Н. //Вестник мясного скотоводства. – 2013. - №1[79). – С. 7-10.

62. Рагимов М.И. Влияние биологически активных веществ с цеолитом на воспроизводительные функции буйволиц / М.И. Рагимов // Зоотехния. - 2002. - № 1. - С. 14-16.

63. Ратникова Л.И. Эффективность энтеросорбентов при острых кишечных инфекциях / Л.И. Ратникова, М.И. Пермитина, А.Н. Попилов // Врач. – 2007. – № 7. – С. 36–37.

64. Равилов А.З. Энтеросорбент Приминкор - эффективное лечебно-

профилактическое средство /А.З. Равилов, В.С. Угрюмова, А.П Савельчев. И Н. Никитин. А.И. Калугина //Ветеринария.- 2010.- № 17.- С. 54-59.

65. Равилов А.З. Фармакологическая активность и эффективность энтеросорбента Приминкор при микотоксикозах птиц и свиней /А.З. Равилов, В.С. Угрюмова, В.А. Антипов // Технология животноводства.- 2006.- № 9-10 (32) - С. 24-29.

66. Ребезов М.Б Изучение продуктивности коров под влиянием природных цеолитов / М.Б. Ребезов // Молочное и мясное скотоводство. - 2002. - № 6. - С. 20-21.

67. Ребезов М.Б Использование природных цеолитов Южного Урала // М.Б. Ребезов // Зоотехния.- 2002.- № 8. - С. 16-17.

68. Решетников В.И. Методология разработки лекарственных форм с иммунобиологической и адсорбционной активностью: дисс. д-ра фарм. наук: 15.00.01 / Виктор Иванович Решетников.- Пермь: ПГФА.- 2003.- 406 с.

69. Решетников В.И. Принципы разработки лекарственных форм сорбентов. - Пермь: Изд-во Пермской гос. фарм. академии, 2008. - 195 с.

70. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ /Под общей редакцией Хабриева Р.У.- 2-изд., перераб. и доп.- М.: ОАО «Издательство «Медицина».- 2005.- 832 с.

71. Руководство по экспертизе лекарственных средств /Под общей редакцией Миронова А.Н.- М.: ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения».- 2013.- Т. I.- 383 с., Т. II.- 281 с.

72. Сальникова А.Г. Анализ потребителей фармацевтического рынка энтеросорбентов /Сальникова А.Г., Панова Н.В. // Вестник ПГФА. - 2007. - № 3. - С. 114-117.

73. Сальникова А.Г. Анализ фармацевтического рынка энтеросорбентов /Сальникова А.Г., Панова Н.В. // Здоровье и образование: Материалы междун. науч.-практ. конф.- Пермь: ПГМА.- 2006. - С. 136-138.

74. Смоленцев С.Ю. Нормализация рубцового пищеварения крупного рогатого скота с применением пробиотика / С.Ю. Смоленцев, А.Л. Роженцов

// Вестник Марийского государственного университета. – 2015. – С.46-48.

75. Смирнова Е.А. Технология приготовления пробиотика КД-5 /Е.А. Смирнова, Т.Н. Грязнева // Клиническое питание: Научно-практический журнал.- Спб.- Мат. межд. конгр. «Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания».- 2007.- № 1-2.- С. 66-67.

76. Тараканов Б.В. Применение биологически активных веществ и пробиотиков / Б.В. Тараканов // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2007. - № 1. – С. 89-101.

77. Тищенко П.И. Влияние пробиотика Тетралактобактерин на морфологические показатели крови, естественную резистентность, переваримость питательных веществ рациона и прирост живой массы телят в молочный период выращивания /Тищенко П.И., Корвяков А.М. // Вестник мясного скотоводства. – 2017. - №2 (98). – С. 168-175.

78. Трепел месторождения «Стальное» Хотимского района Могилевской области в кормлении молодняка крупнорогатого скота /Голушко В.М., Козинец А.И., Надаринская М.А., Голушко О.Г., Козинец Т.Г. // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. – 2013.- № 3 – С. 94-100.

79. Трепел как универсальный наполнитель для премиксов /Надаринская М.А., Козинец А.И., Голушко О.Г., Козинец Т.Г. // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. - № 3-1. – С. 44-47.

80. Ушакова Н.А. Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения / Н.А. Ушакова, Р.В. Некрасов, В.Г. Правдин, Л.З. Кравцова, О.И. Бобровская, Д.С. Павлов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1. – С. 184-192.

81. Черногородская Н.М. Цеолит в рационах молочных коров Якутии / Н.М. Черногородская // Молочное и мясное скотоводство. - 2003. - № 5. - С. 33-34.

82. Черненко В.В. Влияние смекты на цитопротективные свойства слизистой оболочки пищеварительного канала / В.В. Черненко, Н.В. Харченко // Лік. справа.- 2001. - № 5-6. - С. 164 - 166.

83. Чуйко А.А. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / А.А. Чуйко // Киев: Наука думка.- 2003.- 415 с.
84. Цеолитсодержащий трепел как наполнитель для премиксов в комбикормах для высокопродуктивных коров /Козинец А.И., Голушко О.Г., Надаринская М.А., Гонакова С.А., Ларионова Н.В., Гринь М.С. // Зоотехническая наука Буларуси. – 2016. - №1. – С. 301-309.
85. Шадрин А.М. Природные цеолиты в профилактике кормовых и экологических стрессов у животных и птиц / А.М.Шадрин // Аграрная Россия. - 2001. - № 3. - С. 68-70.
86. Щербаков П.Л. Применение энтеросорбентов в лечении дисбиоза кишечника / П.Л. Щербаков // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2009. - №3. – С. 88-92.
87. Экспериментальное изучение эффективности энтеросорбентов при сальмонеллезе /Л.Г. Николаева, А.В. Григорьев, В.А. Знаменских и др. //Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.- 1994. - № 2. - С. 7-11.
88. Adachi T. Fundamental characteristics of synthetic adsorbents intended for industrial chromatographic separation / Adachi T. // J. Chromatogr. A. 2004. V.1036.- №1.- С. 33-44.
89. Abusafa A. Removal of ^{137}Cs from aqueous solutions using different cationic forms of a natural zeolite: clinoptilolite / Abusafa A. // Separation and Purification Technology.- 2002.- Vol. 28, № 2.- P. 103-116.
90. Adamis Z. Ungvary G In vitro and in vivo tests for determination of the pathogenicity of quartz, diatomaceous earth, mordenite and clinoptilolite / Adamis Z. // Annals of Occupational Hygiene, 2000.- Vol. 44, № 1.- P. 67-74.
91. Alexopoulos C. Experimental study on the effect of in-feed administration of a clinoptilolite-rich tuff on certain biochemical and hematological parameters of growing and fattening pigs / Alexopoulos C. // Livestock Science. 2007.- № 111.- P. 230–241.
92. Ali F.M. Adsorption characteristics of wheat bran towards heavy metal cations / Ali F.M. // Separ Purif Technol. 2004.- 38 (2).- С. 197-207.

93. Boullata J. Natural Health Product Interactions with Medication / J. Boullata / Boullata J. // Nutrition in Clinical Practice. 2005. - Vol. 20, № 1. - P. 33-51.
94. Cai L. Evaluation of zeolite for control of odorants emissions from simulated poultry manure storage / Cai L. // J. Environ. Qual. 2007. № 36 (1). P. 184-193.
95. Cairns-Smith A.G. Chemistry and the missing era of evolution / Cairns-Smith A.G. // Chemistry. 2008. № 14 (13). P. 3830-3839.
96. Carbon tetrachloride is immunosuppressive and decreases host resistance to *Listeria monocytogenes* and *Streptococcus pneumoniae* in female B6C3F1 mice / T.L. Guo, J.A. McCay, R.D. Brown et al. // Toxicology. - 2000.-Vol. 154.-№ 1-3.- P. 85-101.
97. Cerri G. Zn-exchanged clinoptilolite rich rock as carrier for erythromycin in anti-acne therapy: An in vitro evaluation / Cerri G. // Book of abstracts 7th International Conference on the Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites «Zeolite '06», 16–21 July 2006, Socorro, New Mexico, USA. P. 75-77.
98. Ceyhan T. In vitro evaluation of the use of zeolites as biomaterials: effects on simulated body fluid and two types of cells / Ceyhan T. // J. Mater. Sci. Mater. Med. 2007. Vol. 18, № 8. P. 1557-1562.
99. Cincotti A. Sardinian natural clinoptilolites for heavy metals and ammonium removal: experimental and modeling / Cincotti A. // Chemical Engineering Journal. 2001. № 84. P. 275-282.
100. Colic M. Molecular mechanisms of anticancer activity of natural dietetic products / Colic M. // J. Mol. Med. 2000. Vol. 78, № 6. P. 333-336.
101. Colic M. Cellular mechanisms of immunomodulatory activities of silicate materials / Colic M. // J. of tumor marker oncology. 2002. № 17. P. 63-68.
102. Concepción-Rosabal B. Bactericidal action of Cuban natural clinoptilolite containing clusters and nanoparticles of silver / Concepción-Rosabal B. // Book of abstracts 7th International Conference on the Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites «Zeolite'06», 16–21 July 2006.- Socorro.- New Mexico.- USA.- P. 88-90.

103. Gabryszewski S.J. Lactobacillus- mediated priming of the respiratory mucosa protects against lethal pneumovirus infection / Gabryszewski S.J. // J Immunol. 2011;186 (2): 1151-1161. (PubMed: 21169550).

104. Galeano B. Inactivation of vegetative cells, but not spores, of *Bacillus anthracis*, *B-cereus*, and *B-subtilis* on stainless steel surfaces coated with an antimicrobial silver- and zinc-containing zeolite formulation / Galeano B. // Applied and Environmental Microbiology. 2003. № 69. P. 4329-4231.

105. Gerasev A.D. Nutrition using natural zeolites for treatment of acute renal insufficiency / Gerasev A.D. // IX Congress of the International Society for Peritoneal Dialysis.- Canada, 2001.- Vol.- 21.- P. 35.

106. Gezen S.S. The effect of zeolite on broiler performance / Gezen S.S. // Indian Veterinary Journal. 2004.- Vol. 81, № .- 4.- P. 411-415.

107. Ghose S. Characterization and modeling of monolithic stationary phases: application to preparative chromatography / Ghose S. // Journal of Chromatogr. A. 2001. V.928. № 1. P.13-23

108. Gritti F. Study of the mass transfer kinetics in a monolithic column / Gritti F. // Journal of Chromatogr. A 2003.- V.983. № 1. P.51-71.

109. Grice M. Antiviral properties of clinoptilolite / Grice M. //Microporous and Mesoporous Materials. 2005. Vol. 79, Issues 1-3. P. 165-169.

110. Gill H.S. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (YN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019) / Gill H.S. / Gill H.S. // Brit. J. Nutr.- 2000.- V.83 (2).- P.167-176.

111. Daković A. Fumonisin B1 adsorption on modified clinoptilolite rich zeolitic tuff . / Daković A. //Book of abstracts 7th International Conference on the Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites «Zeolite '06»,16–21 July 2006, Socorro, New Mexico, USA. P. 90-92.

112. Dyer A.S. The use of zeolites as slow release anthelmintic carriers / Dyer A.S. // J. Helminthol. 2000.- Vol. 74 (2).- P.- 137-141.

113. Eliaz I. The effect of modified citrus pectin on urinary excretion of toxic elements. /Eliaz I., Hotchkiss A. T., Fishman M. L., Rode D. // Phytother Res.

2006; 20 (10): 859-864.

114. Eliaz I. Integrative medicine and the role of modified citrus pectin/alginate in heavy metal chelation and detoxification-five case reports. / Eliaz I., Weil E., Wilk B. // *Forsch Komplementmed*. 2007; 14 (6): 358-364.

115. Enemark J.M. Effect of prepartum zeolite A supplementation on renal calcium excretion in dairy cows around calving and evaluation of a field test kit for monitoring it / Enemark J.M. // *Acta Vet. Scand. Suppl*. 2003. № 97. P. 119-136.

116. Eng K.S. The use of Biolite (a calcium clinoptilolite zeolite) in diets for natural beef production / Eng K.S. // *Book of abstracts 7th International Conference on the Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites «Zeolite '06»*, 16–21 July 2006, Socorro, New Mexico, USA. P. 29-31.

117. Jorgensen R.J. Effect of oral drenching with zinc oxide or synthetic zeolite A on total blood calcium in dairy cows / Jorgensen R.J. // *J. Dairy Sci*. 2001. Mar. 84 (3). P. 609-613.

118. Jones A.M. Pectin agent and method of making / A.M. Jones // *Food process ind.* - 2001. - Vol. 56. - N10. - P.12-15.

119. Hale E.C. Effects of feeding clinoptilolite zeolite and acidogenic compounds to poultry / Hale E.C. // *Book of abstracts 7th International Conference on the Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites «Zeolite '06»*, 16–21 July 2006, Socorro, New Mexico, USA. P. 126-128.

120. Herceg Z. Fine milling and micronization of organic and inorganic materials under dynamic conditions / Herceg Z. // *Powder technology*. 2004. Vol. 139, № 2. P. 111-117.

121. Hill R. Studies on the current ¹³⁷Cs body burden of children in Belarus-can the dose be further reduced? / Hill R, Schlager M., Vogel V., Hille R. et al. // *Radiat Prot Dosimetry*. 2007; 125 (1-4): 523-526.

122. Huwig A. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents / Huwig A. // *Toxicology Letters*. 2001. № 122. P. 179-188.

123. Foglar L. Nitrate removal with bacterial cells attached to quartz sand and zeolite from salty wastewaters / Foglar L. // *World J. of Microbiology & Biotech-*

nology. 2007. № 23. P. 1595-1603.

124. Fruijtier-Pulloth C. The safety of synthetic zeolites used in detergents / Fruijtier-Pulloth C. // Archives of Toxicology, 2009. Vol. 83, № 1. P. 23-35.

125. Ilgren E.B. Castro Larragoitia J. et al. A reconnaissance study of a potential emerging mexican mesothelioma epidemic due to fibrous zeolite exposure / Ilgren E.B. // Indoor and Built Environment. 2008. № 17[6]. P. 496-515.

126. Ivkovic S. The effect of tribomechanically activated zeolite (TMAZ) on total antioxidant status of healthy individuals and patients with malignant disease / Ivkovic S. // Free Radical Biology and Medicine. 2002. № 33 (Suppl. 1). P. 100-102.

127. Ivkovic S. Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: effects on the immune system / Ivkovic S. // Adv. Ther. 2004. № 21 (2). P. 135-147.

128. Ivkovic S. TMAZ nanoparticles as potential drugs influencing the cellular signal transduction pathways / Ivkovic S. // Nanotech. 2005. Vol. 1, Chapter 2: Medical Applications. P. 85-88.

129. Katic M. A clinoptilolite effect on cell media and the consequent effects on tumor cells in vitro / Katic M. // Front. Biosci. 2006. № 11. P. 1722-1732.

130. Katsoulos P.D. Effects of long-term dietary supplementation with clinoptilolite on incidence of parturient paresis and serum concentration of total calcium, phosphate, magnesium, potassium and sodium in dairy cows / Katsoulos P.D. // Am. J. Vet. Res. 2005. № 66. P. 2081-2085.

131. Kartel N.T. Adsorption means on the base of solid complexones of natural hydrocolloid type / Kartel N.T. –In: CERECO 2000. Proceedings of the 3rd International Conference on Carpathian Euroregion Ecology. Miskolc-Lillafured, Hungary, 2000. – P.146-153.

132. Kiaei S.M.M. Effects of diatomite and natural zeolite supplementation on the performance of broiler chicks and litter moisture / Kiaei S.M.M. // J. Fac. Vet. Med. (Univ. Tehran). 2002. Vol. 57, № 2. P. 19-24.

133. Kyriakis S.C. An experimental study on the effect of in-feed inclusion of

a natural zeolite (clinoptilolite) on health status and performance of weaned, growing and finishing pigs / Kyriakis S.C. // The 16th International Pig Veterinary Society Congress, 2000. Vol. 1. P. 381.

134. Kyriakis S.C. Effect of in-feed inclusion of a natural zeolite (clinoptilolite) on some biochemical and hematological parameters of pigs / Kyriakis S.C. // The 16th International Pig Veterinary Society Congress, 2000. Vol. 1. P. 382.

135. Kralj M. Medicine on a small scale / Kralj M. // EMBO reports. 2003. Vol. 4, № 11. P. 1008-1012.

136. Kubota M. Selective adsorption of bacterial cells onto zeolites / Kubota M. // Colloids and Surfaces B-Biointerfaces. 2008. № 64. P. 88-97.

137. Li H. Reduction of ammonia emissions from stored laying Hen Manure through topical application of zeolite, Al+Clear, Ferix-3, or poultry litter treatment / Li H. // J. Appl. Poult. Res. 2008. № 17(4). P. 421-431.

138. Liu Y. Analysis of oligomannuronic acids and oligoguluronic acids by high – performance anion – exchange chromatography and electrospray ionization mass spectrometry / Liu Y. // J. Chromatogr. A. – 2000. – V. 884. – P. 105 – 111.

139. Lomax A.R. Probiotics, immune function, infection and inflammation a review of the evidence from studies conducted in humans / Lomax A.R. // Curr Pharm Des. 2009; 15 (13): P. 1428-1518 (PubMed: 19442167).

140. Lee J.B. Antiviral and immunostimulating effects of lignin-carbohydrate-protein complexes from *Rimpinella anisum* / Lee J.B., Yamagishi C., Hayashi K. // Biosci Biotechnol Biochem. 2011; 75 (3): 459-465.

141. Martin-Kleiner I. The effect of the zeolite clinoptilolite on serum chemistry and hematopoiesis in mice / Martin-Kleiner I. // Food Chem. Toxicol. 2001. № 39. P. 717-727.

142. Milić D. The performance of natural zeolite as a feed additive in reducing aerial ammonia and slurry ammonium ion concentration in the pig farm nursery / Milić D. // Folia Veterinaria, 2005. Vol. 49, № 3, Supplementum. P. 23-25.

143. Milan Z. The removal of bacteria by modified natural zeolites / Milan Z. // J. Environ. Sci. Health, 2001. Vol. 36, № 6. P. 1073-87.

144. Mitzner S. Improvement of hepatorenal syndrome with extracorporeal albumin dialysis MARS: results of a prospective, randomized, controlled clinical trial / Mitzner S. // *Liver Transpl*, 2000. Vol. 6, № 3. P. 277-286.
145. Modirsanei M. Efficacy of dietary natural zeolite and *Saccharomyces cerevisiae* in counteracting aflatoxicosis in broiler chicks / Modirsanei M. // *J. Appl. Anim. Res.* 2004. Vol. 26, № 1. P. 39-44.
146. Muck-Seler D. The effect of natural clinoptilolite on the serotonergic receptors in the brain of mice with mammary carcinoma / Muck-Seler D. // *Life Sci.* 2003. Vol. 16, № 73. P. 2059-69.
147. Miyazawa R. Effects of pectin liquid on gastroesophageal reflux disease in children with cerebral palsy. / Miyazawa R., Tomomasa T., Kaneko H. // *BMC Gastroenterol.* 2008; P. 16: 8-11.
148. Murata Y. Adsorption of bile acid by chitosan-orotic acid salt and its application as an oral preparation / Murata Y., Kudo S., Kofuji K. // *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2004; 52 (10): P. 1183-1185.
149. Murata Y. Properties of an oral preparation containing a chitosan salt. / Murata Y. // *Molecules*. 2009; 14 (2): P. 755-762.
150. Nagy L.E. Molecular aspects of alcohol metabolism: transcription factors involved in early ethanol-induced liver injury / L.E. Nagy // *Annu. Rev. Nutr.* - 2004.- № 24.- P. 55-78.
151. Nešić V. The influence of a diet of mixed feed containing zeolite on the course of cecal coccidiosis in broilers / Nešić V. // *Acta Veterinaria (Beograd)*, 2003. Vol. 53, № . 5-6. P. 377-383.
152. Nesterenko V.B. Reducing the ¹³⁷Cs-load in the organism of «Chernobyl» children with apple- pectin / Nesterenko V.B. // *Swiss Med Wkly.* 2004; 134 (1-2): P. 24-27.
153. Pavelic K. Immunostimulatory effect of natural clinoptilolite as a possible mechanism of its antimetastatic activity / Pavelic K. // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2002. № 128. P. 37-44.
154. Oguz H. Effect of clinoptilolite on serum biochemical and hematological

characters of broiler chickens during afatoxicosis / Oguz H. // Res. Vet. Sci. 2000. № 69. P. 89-93.

155.Ortatatlia M. Evaluation of pathological changes in broilers during chronic afatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure / Ortatatlia M. // Research in Veterinary Science. 2005. № 78. P. 61-68.

156.Papaioannou D. Effect of in-feed inclusion of a natural zeolite (clinoptilolite) on vitamins and some macro and trace element concentrations in the blood and liver tissue of sows / Papaioannou D. // The 16th International Pig Veterinary Society Congress, 2000. Vol. 1, P. 261.

157.Papaioannou D. An experimental study on the effect of in-feed inclusion of a natural zeolite (clinoptilolite) on health status and performance of sows // gilts and their litters / Papaioannou D. // The 16th International Pig Veterinary Society Congress, 2000. Vol. 1. P. 332.

158.Papaioannou D.S. A natural zeolite / Papaioannou D.S. // Res. Vet. Sci. 2002. № 72. P. 61–68.

159.Papaioannou D.S. A feld study on the effect of the dietary use of a clinoptilolite-rich tuff, alone or in combination with certain antimicrobials, on the health status and performance of weaned, growing and fnishing pigs / Papaioannou D.S. // Res. Vet. Sci. 2004. № 76. P. 19-29.

160.Papa G. Characterization of the selectivity of a phenytoin imprinted polymer./ Papa G. // J. Chromatogr. A. 2004.V.1034. №1. P.99-107.

161.Pandey R. Molybdenum in rat tissue / R. Pandey, R. Kumar, S. Singh // Experimental Toxicology.- 2002.- Vol. 21.- P. 33-35.

162.Pavelic K. Natural zeolite clinoptilolite: new adjuvant in anticancer therapy / Pavelic K. // J. Mol. Med. 2001. № 78. P. 708-720.

163.Pavelic K. Immunostimulatory effect of natural clinoptilolite as a possible mechanism of its antimetastatic activity / Pavelic K. // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 2002. № 128. P. 37-44.

164.Petrovich M. Megamin and Immunark in adjuvant therapy of lung cancer / Petrovich M. // 14–th Congress of European Respiratory Society, Glasgow, Great

Britain, 2004. P. 79-81.

165. Poljak-Blazi M. In vitro and in vivo effect of natural clinoptilolite on malignant tumors / Poljak-Blazi M., Katic M., Kralj M. et al. // 13th International Zeolite Conference, Montpellier, France, 8-13 July, 2001. Vol. 135. P. 374.

166. Rosenberg H.F. Inflammatory responses to Respiratory Syncytial Virus (RSV) infection and the development of immunomodulatory pharmacotherapeutics / Rosenberg H.F. // *Curr Med Chem.* - 2012. - V.19 (10). - P.1424-1431.

167. Sacco R.E. Differential Expression of Cytokines in Response to Respiratory Syncytial Virus Infection of Calves with High or Low Circulating 25-Hydroxyvitamin D3 / Sacco R.E. // *PLoS*. 2012, vol. 7, Is. 3, 33074.

168. San Miguel G. Adsorption of organic compounds from solution by activated carbons produced from waste tyre rubber / G. San Miguel, G.D. Fowler, C.J. Sollars // *Separation science and technology*. 2002. - Vol 37, №3. - P. 663-676.

169. Salman H. Citrus pectin affects cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells. / Salman H. // *Biomed Pharmacother*. 2008; 62 (9): P. 579-582.

170. Sakagami H. Distribution of lignin-carbohydrate complex in plant kingdom and its functionality as alternative medicine / Sakagami H., Kushida T., Oizumi T. // *Pharmacol Ther*. 2010; 128 (1): 91-105.

171. Schoonen M. A perspective on the role of minerals in prebiotic synthesis / Schoonen M. // *Ambio*. 2004. Vol. 33, № . 8. P. 539-551.

172. Sverko V. Natural micronized and clinoptilolite mixed with extract *Urtica dioica* L. as possible antioxidant / Sverko V. // *Food Technol. Biotechnol.* - 2004. Vol. 42. P. 189-192.

173. Shahidi F. Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects. / Shahidi F. // *Adv Food Nutr Res*. 2005; 49: P. 93-135.

174. Szajewska H. Meta-analysis: smectite in the treatment of acute infectious diarrhoea in children. / Szajewska H., Dziechciarz P., Mrukowicz J. // *Aliment Pharm Therap*. 2006; 23 (2): 217-227.

175. Thilsing-Hansen T. Hot topic: prevention of parturient paresis and sub-clinical hypocalcemia in dairy cows by zeolite A administration in the dry period / Thilsing-Hansen T. // J. Dairy Sci. 2001. Vol. 84, № 3. P. 691-693.

176. Tomasevic-Canovic M. The effect of exchangeable cations in clinoptilolite and montmorillonite on the adsorption of aflatoxin B1 / Tomasevic-Canovic M. // J. Serb. Chem. Soc. 2001. Vol. 66, № 8. P. 555-561.

177. Vlach E. Use of monolithic sorbents modified by directly synthesized peptides for affinity separation of recombinant tissue plasminogen activator (t-PA). / Vlach E. // J. Biotechnology. 2004. V. 107. № 2. P. 275-284.

178. Vesna L. Prebiotic activity of zeolite based products / Vesna L. // 5-th International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods, San Francisco, SAD, 2004. P. 483.

179. Zarkovic N. Anticancer and antioxidative effects of micronized zeolite clinoptilolite / Zarkovic N. // Anticancer Res. 2003. № 23 (2B). P. 1589-1595.

180. Wingate D. Guidelines for adults on self-medication for the treatment of acute diarrhea. / Wingate D., Phillips S. F., Lewis S. J. // Alimentary Pharmacology and Therapeutics. 2001; 15 (6): P. 773-782.

ПРИЛОЖЕНИЯ

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по науке и инновациям
ФГБОУ ВПО МГАВМиБ,
академик РАН, профессорН.А. Балакирев
«___» _____ 201 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению пробиотика-энтеросорбента Сорболин
для животных, в т.ч. птиц и рыб

[Организация-производитель - ООО «Восток», Россия)

I. Общие сведения

1. Сорболин (Sorbolin) – пробиотик-энтеросорбент для нормализации микробиоценоза желудочно-кишечного тракта у разных видов животных, в т.ч. птиц и рыб, профилактики дисбактериозов, повышения естественной резистентности организма, увеличения сохранности и продуктивности животных, стимуляции роста и развития молодняка.

2. Сорболин содержит лиофилизированную бактериальную массу живых спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135 в равном соотношении, а также энтеросорбент - Хотимский трепел (50%) и вспомогательное вещество – лактозу. Суммарное количество спор бактерий в 1 г добавки составляет не менее 2×10^9 КОЕ (колониеобразующих единиц).

Не содержит генно-инженерно-модифицированных продуктов.

Содержание вредных примесей не превышает предельно допустимых норм, установленных в Российской Федерации.

3. По внешнему виду Сорболин представляет собой порошок серого цвета, растворимый в воде, молоке и молозиве с образованием мелкодисперсного осадка.

4. Сорболин выпускают расфасованным по 1,0; 3,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 и 100,0 г в полимерные или стеклянные флаконы, закупоренные крышками с контролем первого вскрытия или резиновыми пробками, обкатанными алюминиевыми колпачками, или по 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 и 20,0 кг в пакеты из полимерных комбинированных водонепроницаемых материалов или в бумажные многослойные мешки с пластиковым вкладышем.

Флаконы с препаратом упакованы в картонные коробки, обеспечивающие их целостность.

Каждую единицу фасовки маркируют на русском языке с указанием: наименования организации-производителя, ее адреса и товарного знака, названия пробиотика-энтеросорбента, назначения и способа применения, состава, обозначения стандарта организации, надписи «Для животных», номера партии, даты изготовления (число, месяц, год), срока и условий хранения, массы нетто, знака соответствия, номера госрегистрации и снабжают инструкцией по применению.

Хранят в упаковке организации-производителя в закрытых, защищенных от прямых солнечных лучей сухих, чистых и вентилируемых помещениях при температуре от минус 25 °С до 25 °С.

Срок хранения - 24 месяца с даты изготовления при соблюдении условий хранения и транспортирования.

По истечении срока годности пробиотик-энтеросорбент Сорболин к применению не пригоден.

Флаконы, пакеты и мешки с Сорболином без этикеток, с истекшим сроком годности, с нарушением целостности и/или герметичности упаковки, содержащие посторонние примеси, с измененным цветом, а неиспользованные в течение 5 суток после вскрытия первичной упаковки остатки, подлежат выбраковке с последующей утилизацией с бытовыми отходами.

II. Биологические свойства

5. Бактерии *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, используемые для изготовления препарата, отличаются высокой устойчивостью к пищеварительным сокам и ферментам желудочно-кишечного тракта и способностью к быстрому его заселению. В кишечнике животных споры бактерий трансформируются в вегетативные формы и выделяют антибиотикоподобные субстанции, под воздействием которых нормализуются биоценоз кишечника, снижается уровень колонизации кишечника условно патогенными и патогенными микроорганизмами, в т.ч. бактериями и простейшими, активизируется пристеночное пищеварение.

6. Пробиотик-энтеросорбент Сорболин способствует более полному усвоению кальция, адсорбирует и выводит из организма микотоксины, оказывает антитоксическое и иммуномодулирующее действие, обусловленное выработкой пептидогликанов, липополисахаридов, тейхоевых и липотейхоевых кислот.

III. Порядок применения

7. Сорболин применяют для нормализации микробиоценоза желудочно-кишечного тракта у молодняка разных видов животных, в т.ч. птиц и рыб; профилактики и лечения животных при дисбактериозах и сопутствующих патологиях; восстановления нормальной микрофлоры кишечника, нарушенной применением антибиотиков, антигельминтиков, кокцидиостатиков и других химиотерапевтических препаратов; при колибактериозе, сальмонеллезе, клебсиеллезе, протейной, стафилококковой инфекции, диплококковой септицемии, рота-корона-вирусной инфекции, микотоксикозах, эймериозе (кокцидиозе) и др.; для повышения естественной резистентности организма и активизации иммунной системы; повышения сохранности и привесов у молодняка; предупреждения стрессовых реакций у животных (вакцинация, транспортировка, перегруппировка, смена рациона и др.); увеличения молочной продуктивности; повышения качества продукции животного происхождения.

8. Сорболин применяют с профилактической целью ежедневно групповым методом с кормом, премиксами, водой, молоком, молозивом, с минерально-витаминными добавками и другими кормовыми смесями из расчета на 1 тонну:

- телятам, ягнятам, козлятам и жеребяткам с первого дня жизни до 8-ми месячного возраста – 1,0 кг;
- нетелям, первотелкам, сухостойным коровам и животным дойного стада – 0,5 кг;
- лошадям старше 8-ми месячного возраста – 0,5 кг;
- свиноматкам за 15 дней до опороса и в течение всего периода лактации - 1,0 кг;
- поросятам весом от 10 до 15 кг – 0,5 кг;
- свиньям весом от 15 до 30 кг - 0,5 кг;
- свиньям весом свыше 30 кг – 1,0 кг;
- бройлерам в возрасте 1-15 сут. – 1,0 кг;
- бройлерам в возрасте свыше 15 сут. – 0,5 кг;
- курам-несушкам (индейкам, перепелам, уткам, гусям и др. птице) до 7-ми недельного возраста - 0,5 кг;
- пушным зверям – 1,0 кг;
- кроликам - 0,5 кг;
- рыбам – 0,5 кг.

Индивидуально Сорболин назначают больным животным, а также при различных стрессовых ситуациях ежедневно 2 раза в день 10-14 дней подряд с молоком, с водой для поения или с кормом из расчета на голову:

- телятам и жеребятam с первого дня жизни – 1 г;
- ягнятам и козлятам с первого дня жизни – 0,2 г;
- телятам старше 10-дневного возраста и жеребятam до 8-месячного возраста - 3 г;
- поросятam старше 30-дневного возраста за 3 дня перед вакцинацией и поросятam-отъемышам сразу после отъема – 1 г;
- супоросным свиноматкам - за 5 дней до и в течение 5 дней после опороса – по 2 г;
- пушным зверям разных пород и видов - за 5 дней до щенения и в течение 5 дней после щенения – 0,5 г.;
- щенкам пушных зверей до 5-месячного возраста – 0,2 г.;
- щенкам собак разных пород до 1 года – 0,2 г.;
- взрослым собакам разных пород – 1 г.;
- котятam разных пород до 1 года – 0,1 г.;
- взрослым кошкам разных пород – 0,4 г.;
- цыплятам до 10-дневного возраста – 0,02 г;
- курам-несушкам и цыплятам старше 10-дневного возраста – 0,05 г;
- бычкам на откорме, нетелям, первотелкам, сухостойным и дойным коровам, взрослым лошадям – 20,0 г.

Сорболин можно назначать одновременно с антибиотиками и сульфаниламидными препаратами.

9. Побочных явлений и осложнений при применении Сорболина в соответствии с настоящей инструкцией не отмечается.

10. Противопоказаний для применения Сорболина не установлено.

11. Продукцию от сельскохозяйственных животных, в т.ч. птиц и рыб после применения Сорболина реализуют без ограничений.

IV. Меры личной профилактики

12. При работе с пробиотиком-энтеросорбентом Сорболин следует соблюдать правила личной гигиены и техники безопасности, принятые при работе с пробиотическими препаратами.

13. Сорболин следует хранить в местах, недоступных для детей.

Инструкция разработана ООО «Пробиотик-Плюс» (г. Москва) и ФГБОУ ВПО МГАВМиБ.

Адрес организации-производителя: ООО «Восток», 612741, Кировская область, Омутнинский район, пгт. Восточный, Промплощадка.

Рекомендовано к регистрации в Российской Федерации ФГБНУ «ВГНКИ».

Регистрационный номер ПВР _____

Генеральный директор
ООО «Пробиотик-Плюс»



Дегтярева О.Н.

УТВЕРЖДАЮ
 Генеральный директор АО «Холдинговая компания
 – агрофирма «Россия»
 _____ Ю.С. Лищеницкий
 «_____» _____ 2017 г.



А К Т
испытаний эффективности пробиотической минерально-углеводной
кормовой добавки СОРБОЛИН при желудочно-кишечных болезнях
новорожденных телят в сравнительном аспекте

352722, Краснодарский край,
 Тимашевский район

03 августа 2017 г.

Мы, нижеподписавшиеся, специалисты АО «Холдинговая компания – агрофирма «Россия» - главный зоотехник Беляев А.Е., главный ветеринарный врач Геращенко С.Г., а также главный технолог ООО «Пробиотик-Плюс» Шайбель А.Я., заведующая кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, доктор биологических наук, профессор Грязнева Т.Н. и аспирант этой же кафедры Василевич С.Ф., составили настоящий акт о том, что в июне-июле 2017 г, на базе АО «Холдинговая компания – агрофирма «Россия» были проведены исследования по определению эффективности пробиотической минерально-углеводной кормовой добавки СОРБОЛИН и пробиотической кормовой добавки ОЛИН в сравнительном аспекте при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят (разработчик препарата ООО «Пробиотик-Плюс», г. Москва).

Пробиотические кормовые добавки СОРБОЛИН и ОЛИН были предоставлены ООО «Пробиотик-Плюс» в сухом виде, расфасованными по 10 кг в пластмассовые ведра с контролем первого вскрытия.

СОРБОЛИН содержит лиофилизированную бактериальную массу живых спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172, а также вспомогательные вещества – лактозу (20%), диоксид кремния (75%) и серу пищевую (5%). Суммарное количество спор *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 в 1 г препарата составляет не менее 10^6 КОЕ (колониеобразующих единиц).

ОЛИН содержит лиофилизированную бактериальную массу живых спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* ВКПМ 10172 и *Bacillus licheniformis* ВКПМ 10135 в равном соотношении, а также вспомогательное вещество – лактозу. Суммарное количество спор бактерий в 1 г ОЛИНа составляет не менее 2×10^9 КОЕ.

Для оценки эффективности препаратов СОРБОЛИН и ОЛИН при болезнях новорожденных телят, протекающих с диарейным синдромом, из новорожденных телят-аналогов 2-3-дневного возраста, у которых отмечались признаки диареи (проффузный понос, угнетенное состояние, обезвоживание организма) были сформированы 3 группы – 2 опытных и 1 контрольная, по 10 голов в каждой.

Препараты давали телятам перорально, 1 раз в день, 7 дней подряд, по 3 г на голову.

Телят контрольной группы лечили антибиотиками широкого спектра действия.

Период наблюдения за животными составил 14 дней.

До начала постановки опыта и на 5 и 10 дни с начала эксперимента от телят опытных и контрольной групп для проведения бактериологических исследований брали фекалии и определяли количественный и качественный состав кишечной микрофлоры.

Телята опытных и контрольной групп находились под ежедневным клиническим наблюдением. Учитывали характер проявления клинических признаков, продолжительность болезни (табл. 1).

Таблица 1. Эффективность СОРБОЛИНа и ОЛИНа при желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят

№ п/п	Группы животных	Количество голов	Доза, г	Продолжительность курса	Сохранность, гол	Длительность заболевания, дней	Терапевтическая эффективность, %
1	Опытная СОРБОЛИН	10	3	7	10	2	100
2	Опытная ОЛИН	10	3	7	10	4	100
3	Контрольная	10	-	-	8	12	80

Клинический контроль за телятами опытных групп показал, что терапевтическая эффективность препаратов СОРБОЛИН и ОЛИН составила 100 %.

Заболевание у телят в опытных группах протекало в более легкой форме, чем у контрольных животных.

У телят, получавших СОРБОЛИН, продолжительность болезни была в 2 раза короче, чем у телят, получавших ОЛИН, и в 6 раз короче, чем у телят контрольной группы.

Для изучения количественного и качественного состава микрофлоры фекалий телят опытных и контрольной групп с острым расстройством пищеварения определяли в фекалиях наличие патогенных, условно-патогенных и полезных микроорганизмов.

От телят опытных и контрольной групп во все дни исследований выделяли *E. coli*, *Proteus ssp.*, *Enterococcus ssp.*, *Enterobacter ssp.*, лактобактерии и бифидобактерии. От телят, получавших СОРБОЛИН выделяли грибы *Fusarium ssp.* (табл. 2).

Таблица 2. Результаты бактериологического исследования фекалий телят в опытных и контрольной группах

Группа животных	Сроки обследования жив., дн.	Количество микроорганизмов в 1 г фекалий						
		<i>E. coli</i>	<i>Proteus ssp</i>	<i>Enterococcus ssp</i>	<i>Enterobacter ssp</i>	<i>Fusarium ssp</i>	Лактобактерии	Бифидобактерии
Опытная СОРБОЛИН	До начала опыта	10^8	10^7	10^7	10^6	10^6	10^7 - 10^8	10^8
	5	10^7	10^5	10^6	10^5	10^4	10^8 - 10^9	10^8 - 10^9
	10	10^8	10^5	10^5	10^4	10^2	10^8	10^9
Опытная ОЛИН	До начала опыта	10^8	10^7	10^7	10^6	-	10^7 - 10^8	10^8
	5	10^7	10^5	10^6	10^4	-	10^8 - 10^9	10^9
	10	10^8	10^5	10^5	10^4	-	10^9	10^9
Контрольная	До начала опыта	10^8	10^7	10^7	10^7	-	10^7 - 10^8	10^8
	5	10^8	10^7	10^7	10^7	-	10^6 - 10^7	10^7
	10	10^8	10^5	10^5	10^4	-	10^5	10^6

Как видно из данных таблицы, в 1 г фекалий телят опытных групп до начала постановки опыта отмечалось повышенное содержание *E.coli*, *Proteus ssp.*, *Enterococcus ssp.*, *Enterobacter ssp.*, уровень которых снижался до допустимой концентрации на 5 день исследований. Количество лакто- и бифидобактерий у телят в опытных группах возросло до 10^8 - 10^9 м.кл/г фекалий на 5 день исследований.

В опытной группе телят, которым давали СОРБОЛИН, обнаружены грибы *Fusarium ssp.*, при этом на 5-10 дни видно снижение их количества до 10^4 – 10^2 м.кл/г фекалий.

Бактерии-компоненты препаратов СОРБОЛИН и ОЛИН выделялись от всех телят опытных групп на 5 день с начала постановки опыта в высоких концентрациях (10^8 - 10^9 м. кл

в 1 г фекалий), однако уровень содержания этих бактерий имел тенденцию к снижению и на 10 день с начала постановки опыта бактерии-компоненты препарата выделялись в концентрации 10^4 м. кл в 1 г фекалий.

Из фекалий телят контрольной группы, которых лечили антибиотиками, были выделены *E. coli*, *Proteus ssp.*, *Enterococcus ssp.*, *Enterobacter ssp.*, лактобактерии и бифидобактерии. У телят этой группы на 5 день с начала постановки опыта в фекалиях происходит снижение лакто-и бифидобактерий, в то время, как количество патогенной и условно-патогенной микрофлоры было выше допустимых норм. На 10 день исследований нормализации состава кишечной микрофлоры у телят контрольной группы не наблюдалось из-за большой концентрации *E. coli*.

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что применение препаратов СОРБОЛИН и ОЛИН ведет к восстановлению нормального биоценоза пищеварительного тракта телят за счет подавления размножения и элиминации из организма патогенных и условно-патогенных бактерий и повышения концентрации лакто-и бифидобактерий.

При этом СОРБОЛИН укорачивает период продолжительности болезни телят в 2 раза, в сравнении с препаратом ОЛИН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведенные исследования показали, что основную роль в этиологии заболеваний желудочно-кишечными болезнями новорожденных телят играют антибиотикоустойчивые бактерии *E.coli* и сопутствующая микрофлора, обладающие адгезивными, токсигенными свойствами, которые размножаясь в организме животных, вытесняют лакто- и бифидобактерии. У животных отмечается угнетение, диарея на фоне дисбактериоза желудочно-кишечного тракта и обезвоживания организма.

2. Клинические и бактериологические исследования новорожденных телят показали высокую терапевтическую эффективность препаратов СОРБОЛИН и ОЛИН.(100%).

3. СОРБОЛИН способствовал сокращению длительности заболевания телят в 2 раза, по сравнению с пробиотической кормовой добавкой ОЛИН, и обладал противогрибной активностью.

4. Применение препаратов СОРБОЛИН и ОЛИН предотвращает интенсивное размножение условно-патогенных и патогенных микроорганизмов с последующим их вытеснением из желудочно-кишечного тракта новорожденных телят и восстановлением нормобиоценоза.

5. Проведенные исследования позволяют рекомендовать препарат СОРБОЛИН к широкому применению в ветеринарной практике скотоводства.

Главный зоотехник
АО «Холдинговая компания – агрофирма «Россия»



А.Е. Беляев

Главный ветеринарный врач
АО «Холдинговая компания – агрофирма «Россия»



С.Г. Герашенко

Главный технолог
ООО «Пробиотик-Плюс»



А.Я. Шайбель

Заведующая кафедрой
микробиологии ФГБОУ ВО МГАВМиБ-
МВА имени К.И. Скрябина,
доктор биологических наук, профессор



Т.Н. Грязнева

Аспирант кафедры
микробиологии ФГБОУ ВО МГАВМиБ-
МВА имени К.И. Скрябина



С.Ф. Василевич

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
 Федеральное государственное образовательное учреждение высшего
 образования «Московская государственная академия
 ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина»
 (ФГОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И.)

УДК 619:616.33:636



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по науке и инновациям,
 академик РАН, профессор

 Н.А. Балакирев

2016 г.

О Т Ч Е Т

о научно-исследовательской работе

Экспериментальные испытания безопасности и антимикробной активности пробиотической кормовой добавки «СОРБОЛИН»

Начальник научно-
 исследовательского отдела


 подпись, дата

Е.А. Тинаева

Зав. кафедрой микробиологии

 18.10.2016
 подпись, дата

Т.Н. Грязнева

Руководитель темы

 18.10.2016
 подпись, дата

Т.Н. Грязнева

Москва - 2016

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель темы
профессор, д.б.н.

 18.10.2016
подпись, дата

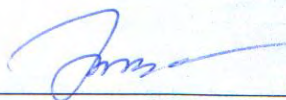
Т.Н. Грязнева

Ответственный
исполнитель
профессор, д.в.н.


подпись, дата

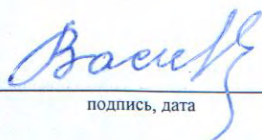
В.А. Гаврилов

Доцент, к.в.н.

 18.10.16
подпись, дата

Т.И. Скрынникова

Аспирант


подпись, дата

С.Ф. Василевич

Общество с ограниченной ответственностью
«Пробиотик-Плюс»

СТО
СТО 84120471-0005-2017

СТАНДАРТ
ООО «ПРОБИОТИК-ПЛЮС»

СОРБОЛИН

Технические условия

Москва
2017

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Пробиотик-Плюс»
О.Н. Дегтярева

 2017 г.

РЕГЛАМЕНТ

производства пробиотической кормовой добавки

СОРБОЛИН

ПР 5Срок действия регламента до « 25 » декабря 20 22 г.

СОГЛАСОВАНО Генеральный директор ООО «Пробиотик-Плюс»  О.Н. Дегтярева 2017 г	РЕКОМЕНДОВАНО к утверждению Главный технолог ООО «Пробиотик-Плюс»  А.Я. Шайбель 2017 г
---	--



**Всероссийская Коллекция
Промышленных Микроорганизмов
ФГУП ГосНИИ Генетика**

✉ Россия, Москва, 117545, 1-ый Дорожный проезд, 1, ФГУП ГосНИИ Генетика - ВКПМ;
☎ (095) 3151210; факс: (095) 3151210; Эл. почта: vkpm@genetika.ru;

10135

СПРАВКА

Всероссийская Коллекция Промышленных Микроорганизмов
(ВКПМ), ФГУП ГосНИИ Генетика
приняла на национальное патентное депонирование
20 октября 2008г.

культуру *Bacillus licheniformis* В-12

Продукт, синтезируемый штаммом : пробиотик

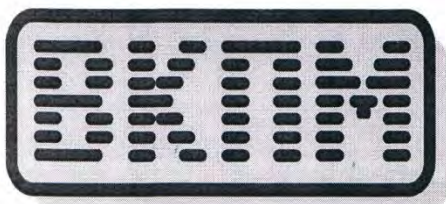
Депозитор: Дегтярева О.Н.

Зав. ВКПМ
проф.

Синеокий С.П.



КОЛЛЕКЦИОННЫЙ НОМЕР ВКПМ В- 10135



Всероссийская Коллекция
Промышленных Микроорганизмов
ФГУП ГосНИИ Генетика

Россия, Москва, 117545, 1-ый Дорожный проезд, 1, ФГУП ГосНИИ Генетика - ВКПМ;
(095) 3151210; факс: (095) 3151210; Эл. почта: vkpm@genetika.ru;

10172

СПРАВКА

Всероссийская Коллекция Промышленных Микроорганизмов
(ВКПМ), ФГУП ГосНИИ Генетика
приняла на национальное патентное депонирование
23 декабря 2008г.

культуру *Bacillus subtilis* В-11

Продукт, синтезируемый штаммом : пробиотик

Депозитор: Дегтярева О.Н.

Зав. ВКПМ  Синеокий С.П.
проф.

КОЛЛЕКЦИОННЫЙ НОМЕР ВКПМ В- 10172



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
 «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии –
 МВА имени К.И. Скрябина» (ФГБОУ ВО МГАВМиБ- МВА имени К.И. Скрябина)
 109472, Москва, Ж 472, ул. Академика Скрябина, 23, тел.: 377-71-29

УДОСТОВЕРЕНИЕ КАЧЕСТВА

№ 5 от 28 апреля 2017 г.

Наименование препарата: пробиотическая кормовая добавка СОРБОЛИН
 Номер партии: 22АПР2017 Количество: 100 кг.
 Получатель: ЧУП «Аграриум» (Белоруссия) Дата изготовления: 22 апреля 2017 г.
 Срок годности: 24 месяца с даты изготовления.

ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА

Показатель качества	Требования СТО 84120471-0005-2017	Результат испытаний	Соответствие требованиям СТО 84120471- 0005-2017
Внешний вид, цвет, запах	Сухая пористая однородная масса от беловато-сероватого до серого цвета со специфическим запахом	Сухая пористая однородная масса сероватого цвета со специфическим запахом	Соотв.
Суммарное количество жизнеспособных <i>B.subtilis</i> ВКПМ В-10172 и <i>B.licheniformis</i> ВКПМ В-10135, КОЕ/г не менее	2×10^9	3×10^9	Соотв.
Соотношение количества <i>B.subtilis</i> ВКПМ В-10172 и <i>B.licheniformis</i> ВКПМ В-10135	1:1	1:1	Соотв.
Массовая доля влаги, %, не более	4,0	3,5	Соотв.
Контаминация посторонними микроорганизмами	Не допускается наличие энтеробактерий, видов <i>P.aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i> , а также кандид и плесневых грибов. Количество сапрофитных мезофильных микроорганизмов - не более 1000 КОЕ/г.	Энтеробактерии, <i>P.aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i> , а также кандиды и плесневые грибы отсутствуют. Количество сапрофитных мезофильных микроорганизмов - 420 КОЕ/г.	Соотв.
Растворимость	При добавлении дистиллированной воды в течение 2-х минут должен образовываться гомогенную взвесь с осадком сероватого цвета	При добавлении дистиллированной воды в течение 2-х минут образует гомогенную взвесь с осадком сероватого цвета	Соотв.
Безвредность для белых мышей	Должен быть безвреден	Безвреден	Соотв.
Подлинность штаммов	По культурально-морфологическим и ферментативным свойствам соответствуют паспортным данным	<i>B.subtilis</i> ВКПМ В-10172 и <i>B.licheniformis</i> ВКПМ В-10135	Соотв.

Заместитель председателя режимной комиссии
 ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И. Скрябина,
 профессор кафедры микробиологии, доктор вет. наук



В.А. Гаврилов