

Козел Л.С., кандидат ветеринарных наук, доцент
 Лойко И.М., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
 Щепеткова А.Г., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
 Скудная Т.М., кандидат ветеринарных наук, доцент
 Воронис О.Н., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
 Левшенюк А.В., магистр ветеринарных наук
 Тарароева Ю.В., магистрант

УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА НА ОСНОВЕ *B. SUBTILIS* НА МИКРОБИОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКА КРОЛИКОВ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Резюме

В результате применения экспериментального кормового пробиотика бактериологический анализ содержимого кишечного тракта кроликов показал, что к концу эксперимента у животных опытной группы количество молочнокислых бактерий составило $9,4 \times 10^5$ КОЕ/г, дрожжеподобных грибов – $5,0 \times 10^5$ КОЕ/г, аэробов – $7,2 \times 10^5$ КОЕ/г. По данным показателям кролики опытной группы превосходили сверстников из контрольной группы на 77,4 %, 50 % и 46,9 % соответственно. Уровень энтеробактерий и бифидобактерий в кишечном тракте животных увеличился на 24,5 % и 20,0 % соответственно по сравнению с контрольной группой и составил в среднем $6,6 \times 10^5$ КОЕ/г и $2,0 \times 10^6$ КОЕ/г, что свидетельствует о заселении кишечника кроликов полезной микрофлорой и улучшении показателей кишечного биоценоза даже в условиях искусственно созданного стресса.

Ключевые слова: кролики, пробиотик, микробиоценоз, бактерии, кишечник, фекалии, питательные среды, колонии, мазки.

Summary

As a result of using the experimental feed probiotic, bacteriological analysis of the contents of the intestinal tract of rabbits showed that by the end of the experiment, the number of lactic acid bacteria in the animals of the experimental group was $9,4 \times 10^5$ CFU/g, yeast-like mushrooms – $5,0 \times 10^5$ CFU/g, aerobes – $7,2 \times 10^5$ CFU/g. According to these indicators, the rabbits of the experimental group outperformed their peers from the control group by 77,4 %, 50 % and 46,9 %, respectively. The level of enterobacteria and bifidobacteria in the intestinal tract of animals increased by 24,5 % and 20,0 %, respectively, compared with the control group, and amounted to an average of $6,6 \times 10^5$ CFU/g and $2,0 \times 10^6$ CFU/g, which indicates the population of rabbit intestines with beneficial microbiota and improved intestinal biocenosis indicators even under conditions of artificially created stress.

Keywords: rabbits, probiotic, microbiocenosis, bacteria, intestines, feces, nutrient media, colonies, smears.

Поступила в редакцию 28.04.2026 г.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в сельском хозяйстве остро стоит вопрос поиска альтернативных методов лечения инфекционных и неинфекционных болезней кроликов.

Чтобы добиться прогресса в области животноводства, включая разведение кроликов, крайне важно максимально использовать генетический потенциал животных. Это достигается за счет оптимизации рационов кормления и включения биологически активных добавок, которые помогают сохранять баланс внутренней среды организма и уменьшать влияние стрессов и неблагоприятных факторов кормления [2].

Учитывая риск распространения болезней при массовом производстве, необходимо находить альтернативные средства, способные укреплять здоровье и устойчивость к болезням без применения антибиотиков.

Среди таких альтернатив выделяют пробиотики, которые не только способствуют росту и повышению продуктивности животных, но и снижают расход корма на единицу продукции [2].

К пробиотикам относят живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах оказывают положительное влияние на здоровье хозяина [15].

Применению пробиотиков на основе бифидо- и молочнокислых бактерий (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) было уделено много внимания. Пробиотики на основе бацилл (*Bacillus subtilis*) изучены позже, и их важное лечебное действие становится ясным только сейчас. Пробиотические препараты, в состав которых входят бактерии *Bacillus subtilis*, используются по четырем основным направлениям: для защиты от кишечных патогенов, от дыхательных патогенов, для устранения дисбактериоза при антибиотикотерапии, а также для усиления переваривания и продвижения пищи [16].

В пищеварительном тракте животных формируется микробиоценоз, обеспечивающий защиту и развитие организма. Около 70 % иммунных клеток расположены в желудочно-кишечном тракте. С первых минут жизни в него поступает множество групп микроорганизмов, однако не все они приживаются в кишечнике. С одной стороны, слизистый барьер помогает блокировать наиболее патогенные бактерии при вторжении в организм, оставаясь при этом проницаемым для питательных веществ. Так как некоторые патогены могут проникать сквозь этот барьер, защитные механизмы хозяина должны работать оптимально, чтобы справиться с множеством чужеродных веществ и патогенов, для которых слизистая оболочка постоянно открыта. С другой стороны, в процессе эволюционного развития сформировался определенный микробиоценоз кишечника, обусловленный постоянной нормальной, или резидентной, микрофлорой [1, 4, 11].

В обычных условиях нормальная микрофлора постоянно присутствует в организме животных. Микробиоценозы формируются в естественных биотопах, контактирующих с внешней средой (пищеварительная, мочеполовая система, легкие, кожа). Различают характерную для данного вида (облигатную, резидентную) и случайную (факультативную, транзиторную) микрофлору [5, 11].

Кишечник животных заселяется антигенно чужеродной микрофлорой, тем не менее, кишечная иммунная система сохраняет нормальный гомеостаз и фактически толерантна к большинству кишечных микроорганизмов. Толерантность отражает преимущества, свойственные постоянной кишечной микрофлоре, обеспечивающей

организм хозяина некоторыми питательными веществами, включая короткоцепочные жирные кислоты, а также витаминами К и группы В, аминокислотами [9, 10].

Нормальный микробиоценоз во многом препятствует развитию бактериальных инфекций и осложнению вирусных болезней секундарной бактериальной флорой. Данное обстоятельство объясняется тем, что у лакто- и бифидобактерий, а также у других представителей нормальной микробиоты кишечного тракта действуют факторы, которые оказывают влияние на исход межмикробного взаимодействия. Это выработка секреторных антител, стимуляция процессов фагоцитоза, клиренс, конкуренция за лимитирующие питательные вещества и за места прикрепления к кишечной стенке, расщепление и нейтрализация ингибирующих веществ, синтез лизоцима и интерферона, образование ацетатного буфера, перекиси водорода, антибиотических веществ, летучих жирных кислот [1, 12, 14].

В отношении видового состава кишечной микрофлоры кроликов имеются довольно большие противоречия. Так, при кормлении кроликов обычными кормами основная масса бактерий представлена родом *Bacteroides*, значительно меньше – кокками, молочнокислые бактерии не встречаются. При внесении в организм кролика с кормом или водой *E. coli*, *Cl. welchii*, *Str. faecalis*, *L. acidophilus* и *C. bovina* они не выделялись из организма с калом или выделялись непродолжительное время. В других исследованиях отмечено, что основная кишечная флора представлена грамположительными бактериями, в которых спорообразующие аэробы вида *Bacillus subtilis* и другие составляют 45–50 %, *Lactobacillus* – 39–45 %, а грамотрицательные неспорообразующие анаэробные бактерии – *Bacteroides* – 2–12 %; колиформные же бактерии встречаются в единичных случаях. Имеются и данные о том, что у 4–8-месячных кроликов микрофлора слепой кишки на 50 % состоит из колиформных бактерий, на 15 % – из *Proteus*, на 10 % – из бацилл и на 10 % – из энтерококков [4, 7].

Первыми обитателями тонкого и толстого кишечника крольчат с 4-дневного возраста становятся *E. coli*, *Streptococcus* и *Bacteroides*. По численности в 1 г содержи-

мого толстого кишечника (10^7 – $10^{9,5}$) на первом месте стоят *Bacteroides*, а на втором (10^4 – 10^8) – колиформные бактерии. При потреблении кроликами одного гранулированного корма бациллы в содержимом их толстого кишечника занимают по численности третье место. Молочнокислые бактерии – и аэробы, и анаэробы – в этом случае не выделяются. Их наличие зависит от условий кормления [4, 7].

Бактерии желудочно-кишечного тракта кроликов участвуют в переваривании питательных веществ корма, в частности клетчатки. Считается, что микроорганизмы толстого кишечника кролика повышают биологическую ценность низкокачественных белков корма [2, 7]. Микроорганизмы, населяющие желудочно-кишечный тракт кроликов, особенно слепую кишку, синтезируют витамины группы В и витамин К, которые благодаря копрофагии усваиваются животными. Микроорганизмы участвуют в жировом обмене, в результате их действия в кишечнике животных уменьшается содержание желчных кислот. При копрофагии таких кислот с калом выделяется больше, чем у «безмикробных» кроликов. Микрофлора желудочно-кишечного тракта способствует также превращению холестерина в желчные кислоты и меньшему его выделению с калом [4, 7].

При нарушении условий содержания кроликов, использовании несбалансированных по питательным веществам рационов, наличии стрессов и т.д. концентрация полезных бактерий в желудочно-кишечном содержимом животных может резко уменьшаться и приводить к дисбактериозу, на фоне которого может возникнуть то или иное заболевание [4, 13, 15].

Целью работы явилось определение влияния экспериментального пробиотика на основе *B. subtilis* в комплексе с дрожжевым экстрактом на микробиоценоз кишечника кроликов в условиях стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по определению влияния экспериментального пробиотика на основе *B. subtilis* на микробиоценоз кишечника кроликов проводились в условиях vivария и кафедры микробиологии и эпизоотологии УО «Гродненский государственный аграрный университет». Для проведе-

ния опыта были сформированы 2 группы кроликов по принципу условных аналогов: опытная (6 кроликов) и контрольная (4 кролика). Опыт проводили на молодняке помесных кроликов в возрасте 5–6 месяцев. Перед началом эксперимента был проведен клинический осмотр животных с выборочной термометрией и оценкой состояния фекалий.

Кролики опытной и контрольной групп содержались в индивидуальных клетках в неотапливаемом помещении с одинаковым рационом кормления. Животным опытной группы задавали перорально с помощью шприца экспериментальный кормовой пробиотик, содержащий клетки и споры штамма бактерий *Bacillus subtilis*, в комплексе с дрожжевым экстрактом в дозе 1,0 мл на животное (титр не менее $1,0 \times 10^9$ КОЕ/г) в течение 30 дней. Экспериментальный пробиотик представляет собой однородную лиофильно высушенную массу от светло-серого до желто-коричневого цвета, хорошо растворимую в воде. Перед применением порошок растворяли в питьевой воде комнатной температуры (18–20 °С).

Животным контрольной группы с помощью шприца в аналогичной дозе перорально вводили питьевую воду комнатной температуры в течение 30 дней. То есть кроликов опытной и контрольной групп постоянно подвергали стрессу, а также в период проведения опыта температура внешней среды колебалась от –14 °С до –29 °С. В течение опыта за животными вели ежедневное клиническое наблюдение, учитывая любые изменения акта дефекации, формы и консистенции фекалий. На 30-й день опыта проводили отбор проб фекалий от кроликов обеих групп.

Подготовка биологического материала (фекалий) включала несколько последовательных этапов, направленных на получение взвеси и максимальное высвобождение микробных клеток из плотных частиц.

Для приготовления разведений фекалий, полученных от кроликов, использовали метод последовательных (серийных) разведений [8].

Из приготовленных разведений фекалий делали посевы шпателем по методу Дригальского на агаризованные питатель-

ные среды: мясо-пептонный агар, Сабуро, Эндо, на лактобакагар для выделения *Lactobacillus spp.*, а также на полужидкую среду для выделения облигатно анаэробной микрофлоры *Bifidobacterium spp.* Все посе-вы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24–48 ч. Чашки Петри с агаром Са-буро оставляли после этого еще на двое суток при температуре 18–24 °С. Анаэробы на полужидкой среде культивировали в анаэробных условиях с использованием анаэроштата. Воздух удаляли с помощью вакуумного насоса. Учет роста колоний проводили через 48 ч, на агаре Сабуро – через 72–96 ч.

Искусственные питательные среды – МПА, агар Сабуро, агар Эндо и лактобака-гар – были использованы для качественно-го и количественного определения микро-флоры кишечника кроликов опытной и кон-трольной групп, питательная среда для вы-деления облигатно анаэробной микрофлоры *Bifidobacterium spp.* – для качественного определения бифидобактерий.

Из качественных характеристик на плотных питательных средах определяли размер и форму колоний, цвет, прозрач-ность, поверхность колоний [6], на полу-жидкой питательной среде учитывали зону роста (нижняя и средняя часть пробирки), вид осадка, отсутствие пленки и газа [6].

Количественные характеристики на плотных питательных средах определяли

подсчетом числа колониеобразующих еди-ниц (КОЕ/см³) с помощью полуавтомати-ческого счетчика колоний.

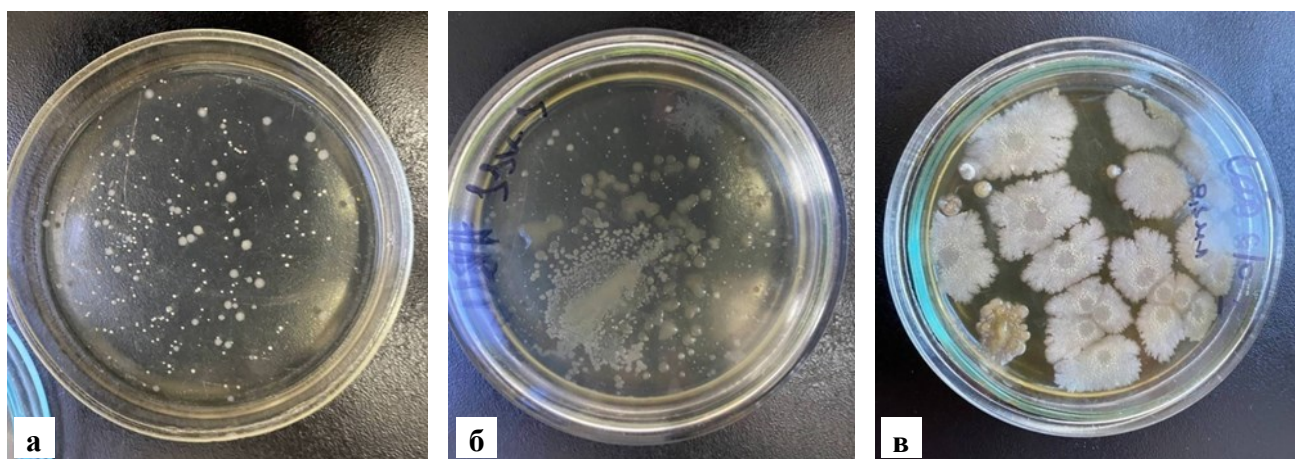
Наиболее типичные колонии были отобраны для приготовления мазков и окраски по Граму с последующим исследо-ванием с помощью светового микроскопа.

Биометрическую обработку резуль-татов исследований проводили с использо-ванием компьютера в программе Microsoft Excel методами вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В начале опыта все кролики были клинически здоровы, температура тела – в пределах физиологической нормы. Фека-лии были в виде плотных шариков корич-невого цвета, что соответствует норме. В течение всего опыта кролики как опытной, так и контрольной групп оставались кли-нически здоровыми, изменений акта дефе-кации, формы и консистенции фекалий не наблюдалось. Однако кролики опытной группы были более активны, охотнее по-едали корм в сравнении с животными кон-трольной группы.

В ходе проведения микробиологи-ческого исследования нами установлено, что у кроликов основными представителя-ми микробиоценоза кишечного тракта яв-ляются энтеробактерии, дрожжеподобные грибы, аэробные микроорганизмы, лакто-и бифидобактерии (рисунок).



а – рост лактобактерий на лактобакагаре; б – рост аэробов на мясо-пептонном агаре;
в – рост дрожжей на агаре Сабуро

Рисунок – Микробиоценоз кишечного тракта кроликов

Результаты бактериологических исследований показали, что у животных контрольной группы в содержимом кишечного тракта доминировали аэробные микроорганизмы, лакто- и бифидобактерии, уровень

которых составил в среднем $4,9 \times 10^6$ КОЕ/г, $5,3 \times 10^5$ КОЕ/г и $1,0 \times 10^6$ КОЕ/г соответственно, на что указывает морфология колоний, результаты исследования микроскопических препаратов (таблица).

Таблица – Результаты микробиологического исследования кишечного содержимого кроликов при использовании экспериментального кормового пробиотика

Микроорганизмы	Группа животных	Количество микроорганизмов, содержащихся в 1,0 г кишечного содержимого кроликов, КОЕ/г
Общее число аэробных микроорганизмов	контрольная	$4,9 \times 10^6 \pm 1,28$
	опытная	$7,2 \times 10^6 \pm 0,02$
Энтеробактерии	контрольная	$1,3 \times 10^5 \pm 1,28$
	опытная	$6,6 \times 10^5 \pm 2,28^*$
Лактобактерии	контрольная	$5,3 \times 10^5 \pm 0,75$
	опытная	$9,4 \times 10^5 \pm 0,20^{**}$
Бифидобактерии	контрольная	$1,0 \times 10^6 \pm 0,02$
	опытная	$2,0 \times 10^6 \pm 0,02^{**}$
Дрожжеподобные грибы	контрольная	$1,0 \times 10^5 \pm 0,10$
	опытная	$5,0 \times 10^5 \pm 0,50^*$

Примечание – $*P < 0,001$; $**P < 0,01$

В ходе опыта установлено, что пероральное введение кроликам экспериментального пробиотика привело к стимуляции размножения в кишечном тракте всех групп микроорганизмов, но в большей степени лактобактерий, дрожжеподобных грибов и аэробных микроорганизмов, что свидетельствует о выраженной положительной тенденции в изменении состава кишечного микробиоценоза кроликов.

Бактериологический анализ содержимого кишечного тракта животных показал, что к концу эксперимента у животных опытной группы количество молочнокислых бактерий составило $9,4 \times 10^5$ КОЕ/г, дрожжеподобных грибов – $5,0 \times 10^5$ КОЕ/г, аэробов – $7,2 \times 10^6$ КОЕ/г (таблица). Соответственно, количество лактобактерий и аэробов у кролики опытной группы было выше, чем у сверстников из контрольной группы, на 77,4 % ($P < 0,01$) и 46,9 %. Количество дрожжеподобных грибов у животных опытной группы было в 5 раз выше, чем у кроликов контрольной группы.

Полученная картина кишечного микробиоценоза при введении кроликам экспериментального пробиотического препарата, на наш взгляд, представляется фи-

зиологической, поскольку среди микробиоты преобладали кислотопродуцирующие бактерии, которые участвуют в процессах расщепления углеводов, поступающих с кормом, и обеспечивают кислое значение водородного показателя в пищеварительном тракте животных, что исключает предпосылки для развития кишечных заболеваний.

При введении кроликам экспериментального пробиотика уровень энтеробактерий в кишечном тракте увеличился в 5 раз, бифидобактерий – в 2 раза по сравнению с контрольной группой и составил в среднем $6,6 \times 10^5$ КОЕ/г и $2,0 \times 10^6$ КОЕ/г соответственно, что свидетельствует о заселении кишечника кроликов полезной микробиотой и улучшении показателей кишечного биоценоза даже в условиях искусственно созданного стресса.

По-видимому, бактерии, входящие в состав экспериментального пробиотика, размножаясь в кишечнике подопытных животных, продуцируют биологически активные вещества, которые повышают перевариваемость и всасываемость питательных веществ рациона, а также обладают высокой антагонистической активностью в

отношении патогенных и условно-патогенных бактерий, способствуют подавлению некоторых метаболических реакций в кишечном тракте кроликов даже в условиях стресса.

Следует отметить, что и к концу исследований в кишечном тракте подопытных животных наиболее многочисленной группой микроорганизмов были аэробы и бифидобактерии. По-видимому, превалирующее положение данных групп микроорганизмов связано с их функциями в ки-

шечнике кроликов, а именно с высокой ферментативной активностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование экспериментального кормового пробиотика на основе *B. subtilis* в комплексе с дрожжевым экстрактом позволило селективно воздействовать на микробиом пищеварительного тракта кроликов, способствуя тем самым повышению колонизационной резистентности кишечника даже в условиях искусственно созданного стресса.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Воробьев, А. А. Медицинская и санитарная микробиология: учеб. пособие для студ. высш. мед. заведений / А. А. Воробьев, Ю. С. Кривошеин, В. П. Ширококов. – М. : Издательский центр «Академия», 2003. – 464 с.
2. Дыптан, О. Н. Перспективы развития кролиководства / О. Н. Дыптан, Н. А. Ожередова // Достижения молодых ученых в АПК : материалы Всероссийской науч.-практ. конф. студентов, магистров, аспирантов и молодых ученых, Махачкала, 10–12 апреля 2019 г. – Махачкала : ИП «Магомедалиева С. А.», 2019. – С. 270–273.
3. Использование отечественного пробиотика при выращивании кроликов / Н. Н. Омельченко, А. А. Лысенко, Н. А. Омельченко, Д. В. Осечук // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2015. – № 53. – С. 195.
4. Калугин, Ю. А. Капрофагия / Ю. А. Калугин // Кролиководство и звероводство. – 1995. – № 4. – С. 11–12.
5. Куваева, И. Б. Антагонистическая активность микробных популяций защитной флоры и ее связь с характеристикой микробиоценоза и факторами питания / И. Б. Куваева, Г. Г. Кузнецова // Вопросы питания. – 1993. – № 3. – С. 12–15.
6. Медведев, А. П. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика: справочник / А. П. Медведев. – Гродно : ЮрСаПринт, 2020. – 480 с.
7. Олескин, А. В. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов / А. В. Олескин, И. В. Ботвинко, Е. А. Цавкелова // Микробиология. – 2000. – 69 (3). – С. 309–327.
8. Определение микробиоценоза кишечного тракта животных в норме и при дисбактериозах : рекомендации / В. Н. Алешикевич [и др.] ; УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», кафедра микробиологии и вирусологии. – Витебск : ВГАВМ, 2017. – 39 с.
9. Паулискас, В. Ю. Паразитоценоз желудочно-кишечного тракта свиней / В. Ю. Паулискас. – М. : Колос, 1990. – 81 с.
10. Петров, В. В. Микробиоценоз кишечника животных : методы изучения и коррекции / В. В. Петров, И. И. Иванов; под ред. А. А. Кузнецова. – Витебск : ВГАВМ, 2022. – 198 с.
11. Петровская, В. Г. Микрофлора человека в норме и патологии / В. Г. Петровская, О. П. Марко. – М. : Медицина, 1976. – 221 с.
12. Субботин, В. В. Становление нормального микробиоценоза в постнатальном периоде у домашних животных / В. В. Субботин // Материалы первого съезда фармакологов России. – Воронеж, 2007. – С. 570–575.
13. Adams, M. R. Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures / M. R. Adams, C. J. Hall // Int. J. Food Sci. Technol. – 1989. – № 23. – P. 287–292.
14. Erickson, K. L. Probiotic immunomodulation in health and disease / K. L. Erickson, N. E. Hubbard // J. Nutr. – 2000. – № 130. – P. 403–409.
15. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report. – VRL : <ftp://ftp.fao.org> (date of access : 02.03.2026).
16. Olmos, J. *Bacillus subtilis* A Potential Probiotic Bacterium to Formulate Functional Feeds for Aquaculture / J. Olmos, J. Paniagua-Michel // J. Microb. Biochem. Technol. – 2014. – Vol. 6, № 7. – P. 361–365.