

К.Б. Бияшев¹, Г.К. Джанабекова¹, Ж.С. Куркимбаева¹,
Б.К.Бияшев¹, С.Е.Ермагамбетова¹, Д. А.Сарыбаева¹

¹Казахский национальный аграрный университет, г. Алматы, Казахстан

ПРЕПАРАТ «ЭНТЕРОКОЛ» ПРОТИВ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ МОЛОДНЯКА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Аннотация. Создан высокоэффективный экологически безопасный пробиотический препарат «Энтерокол», предназначенный для лечения кишечных инфекций молодняка сельскохозяйственных животных. В результате проведенных исследований был получен аттенуированный штамм *Escherichia coli* 64Г, Его основные характеристики - соответствует нормальной микрофлоре желудочно-кишечного тракта здоровых животных; непатогенен и нетоксичен; активен в экосистеме желудочно-кишечного тракта, переносит пассаж через желудок; обладает способностью к адгезии на эпителии и приживанию в пищеварительном тракте; имеет генетические маркеры для отличия его от штаммов естественного происхождения, безопасный для молодняка сельскохозяйственных животных. На штамм *Escherichia coli* 64Г получен патент № 28311. На основе штамма *E.coli* 64Г создан пробиотический препарат «Энтерокол» прошедший широкую апробацию в различных хозяйствах Казахстана для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний новорожденного молодняка животных и птиц. На препарат «Энтерокол» получен патент № № 25918. Аналогов в мире нет.

Ключевые слова: эшерихии, пробиотик, аттенуация, штамм, кишечные инфекции.

• • •

Түйіндеме. Ауыл шаруашылығы жануарларының жас төлдерінің ішек инфекциясына қарсы тиімділігі жоғары экологиялық қауіпсіз «Энтерокол» пробиотикалық препараты жасалды. Жүргізілген зерттеу жұмыстарының нәтижесінде мынандай биологиялық қасиеттерімен сипатталатын аттенуирленген *Escherichia coli* 64Г штамы алынды: дені сау жануардың

Работа выполнялась в соответствии с планом грантового проекта АР05132442 «Разработка технологии изготовления пробиотического препарата» Энтерокол» и создание его опытно-промышленного образца».

ішек-қарын жолының қалыпты микрофлорасы, зардапты емес, улы емес, жануарлардың ішек-қарын жолдары экожүйесінде белсенді, ас қорыту жолында тіршілік ету және эпителияға адгезивті қасиеттеріне ие, табиғи штамдардан ерекшелігі сол генетикалық маркері бар, ауыл шаруашылығы жануарларының жас төлдері үшін қауіпсіз. *Escherichia coli* 64Г штамына № 28311 патент алынған.

E.coli 64Г штамы негізінде жаңа туған жануарлар мен құстардың ішек-қарын инфекциясын емдеу мен алдын алуға арналған Қазақстан Республикасы шаруашылықтарында кеңінен апробацияланатын «Энтерокол» пробиотикалық препараты дайындалды. «Энтерокол» препаратына № 25918 патенті алынды. Оның әлемде теңдесі жоқ.

Түйінді сөздер: эшерихия, пробиотик, аттенуация, штамм, ішек инфекциясы.

• • •

Abstract. It was created the highly effective environmentally safe probiotic preparation «Enterocol» against intestinal infections of young animals of farm animals. As a result of the studies, it was obtained an attenuated strain of *Escherichia coli* 64G. It is characterized by the following biological properties: corresponds to the normal microflora of the gastrointestinal tract of healthy animals; non-pathogenic and non-toxic; is active in the ecosystem of the gastrointestinal tract of animals, carries the passage through the stomach; has the ability to adhere to the epithelium and live in the digestive tract; has genetic markers to distinguish it from strains of natural origin, safe for young animals of farm animals. Patent No. 28311 is obtained for the strain *Escherichia coli* 64G. On the basis of *E.coli* 64G strain, it was developed probiotic preparation Enterocol, which was widely tested in the farms of the Republic of Kazakhstan for the treatment and prophylaxis of gastrointestinal diseases of newborn young animals and birds. Patent No. 25918 was obtained for the drug “Enterocol”. There are no analogues in the world.

Keywords: *Escherichia*, probiotic, attenuation, strain, intestinal infections.

Введение. Мировая общественность уделяет серьезное внимание безопасности продуктов питания. Наиболее ярко это проявилось в отказе от использования антибиотиков-стимуляторов роста в странах Европейского союза. Продукты убоя животных при определенных условиях могут быть источником возникновения не только типичных инфекционных и инвазионных болезней у людей, но и различных пищевых заболеваний, к которым относят пищевые токсикоинфекции и токсикозы. Микробные контаминанты - возбудители пищевых токсикоинфекций, создают особый риск для здоровья человечества. Акту-

альность этой проблемы вытекает из того, что почти миллион диарейных инфекций в год связаны с микробиологическим фактором [1,2].

Накопленный фактический материал и многочисленные научные публикации последних лет свидетельствуют о том, что характерной чертой современной инфекционной патологии молодняка является неукоснительный рост оппортунистических кишечных инфекций, возбудителями которых являются условно-патогенные бактерии. Эти микроорганизмы широко циркулируют в хозяйствах, обладают широким спектром вирулентности (энтеротоксигенности, адгезивности, гемолитической активности, антибиотикоустойчивости). Основным биотопом условно-патогенных бактерий родов *Escherichia*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Peptococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Yersinia*, *Ervinia*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* является кишечник теплокровных животных. Высокая экологическая пластичность условно-патогенных бактерий позволяет им длительно сохраняться в различных объектах внешней среды [3]. Попытки перевести проблему желудочно-кишечных заболеваний, вызываемых условно-патогенными кишечными микроорганизмами, в плоскость инфекционной патологии не только не разрешили её, а лишь усугубили, усилив роль антибактериальной терапии, благодаря чему при лечении желудочно-кишечных болезней молодняка, а также для стимуляции роста стали широко применять антибиотики. Однако мировой опыт применения препаратов данной группы показал, что они не обладают абсолютной эффективностью, а ставшая повсеместной практика включения в корм моногастричным животным и птице субтерапевтических количеств антибиотиков привела к нежелательным эффектам.

Негативные последствия фармакологического прессинга, усиленные антропогенной и техногенной нагрузкой на среду обитания животных и птицы, выразились в усилении изменчивости у циркулирующих в хозяйствах бактерий и вирусов. Это привело к развитию у них множественной лекарственной резистентности и усилению факторов патогенности у таких представителей микрофлоры кишечника, как бактерии группы кишечной палочки, энтерококки, кампилобактерии, стафилококки и другие, а в ряде хозяйств обнаруживалась чрезмерно повышенная устойчивость бактерий ко всем применяемым антибиотикам. Кроме того, в борьбе за сохранение вида микроорганизмы усиливают своё патогенетическое действие за счёт ассоциации друг с другом.

Наряду с этой проблемой, возросла угроза попадания остаточных количеств антибиотиков с продукцией птицеводства в пищу человека, что может привести к снижению эффективности применения этой группы лекарственных препаратов уже при лечении людей. В связи с этим одними из первых были запрещены к использованию на территории ЕС в кормлении животных именно те классы антибиотиков, которые имеют широкое применение в гуманной медицине [4]. Проблема профилактики и лечения желудочно-кишечных патологий у животных и птицы, возбудителями которых являются условно-патогенные кишечные микроорганизмы, имеет как экономическое, так и социальное значение, которое проявляется в аспекте противоэпидемиологической защиты здоровья людей.

Снижение колонизационной резистентности кишечника, приводит к транслокации кишечных микроорганизмов в органы и ткани животных и птицы. Свидетельством реального существования такой угрозы являются, отмечаемые в отчётах Всемирной организации здравоохранения, участвовавшие вспышки пищевых токсикоинфекций у людей в странах с традиционно высоким потреблением яиц, мяса, молока или с обычаями употреблять в пищу полусырые животные продукты. Причины этих заболеваний связывают с контаминацией продукции животного происхождения условно-патогенными микроорганизмами с повышенными вирулентными свойствами, которые обладают широкой средовой адаптивностью и способностью легко сохраняться и размножаться в процессе переработки и хранения кормов [5]. По данным ВОЗ за последние 10 лет в мире в 6 раз возросла заболеваемость людей сальмонеллезом. В странах СНГ в течение последних 15-ти лет заболеваемость людей и птицы сальмонеллезом увеличилась в 7 раз [6].

Это обстоятельство потребовало пересмотра сложившихся управленческих подходов к профилактике и лечению желудочно-кишечных заболеваний и необходимости разработки и внедрения в производство нового поколения экологически безопасных препаратов, направленных на коррекцию кишечного биоценоза животных и повышение колонизационной резистентности слизистой кишечника к контаминации условно-патогенной микрофлорой.

Мировой опыт свидетельствует, что в профилактике желудочно-кишечных болезней молодняка всё большее применение находят новые стратегии кормления, направленные на ограничение колони-

зации кишечника патогенами. При этом широко используются такие кормовые добавки, как ферменты, органические кислоты, пребиотики, симбиотики. Также возросло значение заместительной терапии, направленной на восстановление кишечного биоценоза путем регуляторного введения живых бактерий - представителей нормальной кишечной микрофлоры. Препараты, в состав которых они входят, известны под названием пробиотики. Их применение приводит к частичному или полному отказу от антибиотиков, а это очень важно при современной направленности производства в сторону получения экологически безопасной продукции при сокращении сроков выращивания животных и птицы. Механизм действия пробиотиков 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 вирулентности в популяции условно-патогенных бактерий.

Бактерии-пробионты обеспечивают опережающее заселение кишечника новорожденных животных нормальной микрофлорой и создают биологический барьер, преграждающий доступ к ней условно-патогенных бактерий. В процессе жизнедеятельности бактерии-пробионты вырабатывают комплекс биологически активных соединений, избирательно воздействующих на условно-патогенные микробы [7]. В состав пробиотических лекарственных средств входят микроорганизмы, безопасные для здоровья человека и животных, обладающие широким спектром протективных свойств, в частности, бифидобактерий видов *Bif.adolescentis*, *Bif.bifidum*, *Bif.langum*, *Bif.globosum*, *Bif.thermophilus*; молочнокислые бактерии *L.acidophilus*, *L.planlarum*, *Lbulgaricus*, *L.rhamnosus*, *L.fermentum*; стрептококки *Str.faecium*, *Str.lactisdiastaticus*; спорообразующие бактерии *Bacillus subtilis*, *Bacilluslicheniformis*, *Bacillus cereus van Toyi*, *Ruminococcus albus*, *Bacillus pantothenicus* [8].

В настоящее время на ветеринарном лекарственном рынке предлагается много препаратов, которые рекламируют как пробиотики. Они различны по составу, качеству, фармакологической направленности действия, показаниям к применению. Однако мониторинг рынка пробиотиков показывает, что подавляющее большинство разработок не востребованы практикой в силу ряда недостатков: длительность применения, плохая приживаемость

в кишечнике из-за низкой колонизирующей способности (малая адгезивность и скорость роста); препараты действуют только на отдельно взятые виды патогенных микроорганизмов; различные методы отбора пробиотических штаммов; плохое качество препарата (малое или большое количество живых микробных клеток в дозе или контаминация посторонними микробами); неудовлетворительная сохранность препарата в полевых условиях. К тому же в состав большинства выпускаемых пробиотиков входят штаммы, выделенные из кишечника человека или взятые из коллекции штаммов для пищевой промышленности. Во многих публикациях акцентируется внимание на том, что штаммы для изготовления ветеринарных пробиотиков должны быть выделены из кишечника животных, что является обоснованным, так как целью применения пробиотиков является восстановление нормального микробиоценоза желудочно-кишечного тракта животных с учетом их физиологических особенностей.

В СССР для разработки пробиотика применили штамм *E.coli* M-17, который является производным штамма *E. coli*, используемого для получения препарата «Mutaflor». Однако, в отличие от исходного штамма, коммерческий штамм *E.coli* M17 утратил способность к синтезу антибиотических веществ и, следовательно, снизил свою антагонистическую активность в отношении бактерий кишечной группы. Поэтому мероприятия по разработке новых пробиотических штаммов *E.coli* или восстановлению антагонистической активности уже существующих штаммов является актуальной задачей.

Цель работы - создание высокоэффективного экологически безопасного пробиотического препарата «Энтерокол» для борьбы с кишечными инфекциями молодняка сельскохозяйственных животных.

Методы исследований. Объектом исследования явился аттенуированный штамм *E.coli*, с целью использования его для изготовления препарата «Энтерокол».

Основные результаты. В задачу исследований входило получение бактерицинопродуцирующего штамма *E.coli*, обладающего высокоантагонистическими свойствами по отношению к возбудителям кишечных инфекций молодняка. Для выполнения поставленных задач было проведено изучение морфологических, физиолого-биохимических

мических, антигенных, патогенных свойств эшерихии, выделенных от здорового молодняка сельскохозяйственных животных. В результате был отобран производственный штамм *Escherichia coli* 64, организма здорового теленка.

Из исходного производственного штамма *Escherichia coli* 64 генетическим методом получен аттенуированный штамм *Escherichia coli* 64Г. Метод получения штамма *Escherichia coli* 64Г заключался в следующем: исходный штамм *Escherichia coli* 64 высеивали на чашки с агаром Хоттингера, содержавшие определенную концентрацию двух мутагенов (Nea, Rif). Полученные мутанты с желаемым фенотипом 3 раза рассеивали на селективной среде смутагенами (Nea, Rif). Вирулентность выделенных клонов изучали опытным путем на мышах при их внутрибрюшинном заражении. В результате мутанты с фенотипом Nea^R 100 и Rif^R100 характеризовались снижением вирулентности на 5-6 порядков. Отобрали аттенуированный клон 64 NR ($LD_{50} = 10^{10}$), который являлся донорским штаммом в опытах трансдукции с использованием бактериофага P22. Доказано, что передача каждой из мутаций, обуславливающих фенотип мутанта 64 NR, в исходный производственный штамм *E.coli* 64 приводит к снижению его вирулентности. Среди трансдуктантов, приобретших одновременно две мутации, сообщающие резистентность к Nea, Rif отобран штамм *Escherichia coli* 64Г. Штамм *E.coli* 64Г характеризуется различными признаками и свойствами.

Морфологические признаки. Клетки штамма короткие палочки, подвижные, грамотрицательные, спор и капсул не образуют.

Культуральные свойства. Бактерии штамма при росте на мясо-пептонном агаре через 24 ч. образуют гладкие, выпуклые, круглые, блестящие, полупрозрачные колонии серого цвета с ровными краями, на среде Эндо через 24 ч. – круглые колонии темно-красного цвета с металлическим блеском. При культивировании в жидких средах – бактерии штамма через 18 ч. образуют равномерное помутнение.

Физиолого-биохимические признаки. Диапазон температур роста 37-39°C. Оптимальная температура 37°C. Оптимум pH 6,8-7,5. В качестве источника углерода используют глюкозу, лактозу, мальтозу, арабинозу, сорбит, сахарозу, дульцит, салицин. Образует индол и не образует сероводород. Обладает лизин – и орнитиндекарбоксилазой

активностью, не обладает уреазной активностью. Не разжижает желатин.

Антигенная структура. Имеет типичную для *E.coli* структуру: O-группа 111, с адгезинами F41 и K99.

Стабильность аттенуации и маркеров резистентности к мутагенам у штамма 64Г определяли путем обработки штамма мутагеном нитрозогуанидином. Изучение указанных свойств у 10 клонов штамма, отобранных после такой обработки, выявило их сохранение на том же уровне, что и у необработанной культуры ($LD_{50} = 9,0 \pm 0,20$);

Генетический анализ безопасности штамма 64Г, как штамма продуцента препарата пробиотика, проведенный с использованием трансдуцирующего бактериофага P22, показал, что его фенотип определяется наличием 2-х независимых мутаций в генах, детерминирующем резистентность к Nea и Rif, ведущая к повреждению рибосомальных белков S_{17} и S_{12} , влияющая на правильность считывания генетической информации, т.е. происходит аттенуация. Таким образом, аттенуация связана с нарушением трансляции генов, кодирующих синтез важных факторов патогенности бактерии или генов, продукты которых имеют важное значение в жизнедеятельности бактерии. Изучение вирулентности полученных трансдуктантов при внутрибрюшинном заражении белых мышей выявило снижение ее клонов, которые приобрели как 2 мутации, сообщающие резистентность к Nea и Rif, так и каждую в отдельности;

Дифференциация штамма-продуцента *E.coli* 64Г. Штамм *E.coli* 64Г дифференцируется от культур естественного происхождения по резистентности к 2 мутагенам – Nea и Rif. Наличие генетических маркеров резистентности к мутагенам позволяет дифференцировать штамм 64Г в лабораторных условиях на простых питательных средах в течение 16-20 ч. от культур эпизоотического прототипа при подозрении на эшерихиоз или при выделении эшерихии в продуктах животного происхождения.

Присутствие в штамме *E.coli* 64Г двух мутаций с известными механизмами действия, каждая из которых может снижать вирулентные свойства, служит убедительным доказательством стабильности и безопасности штамма-продуцента *E.coli* 64Г. Теоретическая частота обратной мутации одновременно по своим маркерам составляет примерно 10^{-14} , хотя практически это невозможно.

При изучении биологических свойств в опыте на лабораторных животных и на телятах, ягнятах, поросятах и цыплятах определено, что штамм *E. coli* 64Г характеризуется следующими биологическими свойствами:

- является представителем нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта здоровых животных;
- непатогенен и нетоксичен;
- активен в экосистеме желудочно-кишечного тракта животных, переносит пассаж через желудок и метаболизируется в кишечнике увеличивая рост и резистентность к заболеванию;
- обладает способностью к адгезии на эпителии и приживанию в пищеварительном тракте (подтверждено гистологическими исследованиями);
- является стабильным и способен оставаться жизнеспособным в производственных условиях.

Важнейшим требованием по изготовлению и контролю биопрепаратов является схема технологического процесса производства препарата из штамма *E. coli* 64Г, включающая: приготовление посевного материала; культивирование штамма 64Г для получения бактериальной массы; концентрирование бактериальной массы; разведение бактериальной культуры средой высушивания; расфасовка препарата; высушивание препарата и маркировка флаконов с препаратом и упаковка.

Приготовление питательной среды. Для изготовления препарата из штамма *E. coli* 64Г использовали основной перевар Хоттингера, содержащий 10% печеночного экстракта, 0,4% пептона, затем добавляли дистиллированную воду с таким расчетом, чтобы содержание аминного азота было не менее 200-250 мг/%. Смесь доводили до кипения. Кипячение продолжали 30 мин. Затем устанавливали pH среды до 7,7-7,8 путем добавления 20%-ного едкого натра, 0,3% химически чистого хлорида натрия. Среду после кипения отстаивали в течение 1-1,5 ч., фильтровали через ватно-марлевый фильтр и перекачивали в реактор.

Для контроля стерильности среды брали пробы и делали посевы на среды: МПА, МПБ, МППБ, под вазелиновым маслом, Эндо.

Приготовление посевного материала. Для приготовления препарата из штамма *E. coli* 64Г использовали отдельную ампулу с ли-

офилизированной культурой. Ампулу с сухим штаммом 64Г вскрывали и добавляли в неё 2мл стерильного физиологического раствора. Полученную взвесь высевали во флаконы с бульоном Хоттингера (емкость флакона - 100мл). Выращивали штамм 64Г в течение 14-16 ч. при температуре -37-38°C (культура первой генерации).

Культуру первой генерации штамма *E.coli* 64Г (после проверки на чистоту) засекали в бутылку, содержащую 10л бульона Хоттингера (культура второй генерации). Культивирование проводили в течение 18-20 ч. при T - 37-38° С.

Культивирование производственного штамма для получения бактериальной массы. Культуру второй генерации штамма *E.coli* 64Г (после проверки на чистоту) засекали в АКМ-Шили в реактор (аппараты для культивирования микроорганизмов) со стерильной питательной средой. Культуру выращивали в течение 14-16 ч. при T - 37-38°C при постоянном перемешивании и непрерывной аэрации. После указанного срока выращивания штамма *E.coli* 64Г в аппарат вводили стерильную смываемую жидкость (среда высушивания) и производили смыв путем вращения аппарата и его лепестков. Среда высушивания содержит 1,5-2% желатина, 10% сахарозы, pH среды - 7,8-8,0.

После смыва микробную массу хранили при T - 2-10°C в течение 2-3 сут. Полученную микробную массу проверяли на чистоту и типичность роста путем посева в пробирки с МПА, МПБ, МППБ, Эндо.

Концентрирование бактериальной массы. Полученную микробную массу доводили до концентрации 10^{10} КОЕ в 1см^3 по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича, путем добавления среды высушивания. Культуру перед расфасовкой проверяли на чистоту и отсутствие посторонней контаминации микроскопией мазков, окрашенных по Граму и делали посева на МПА, МПБ, МППБ, Эндо. Посевы выдерживали при T - 37-38°C в течение 10 сут.

Технологический процесс лиофилизации препарата из штамма *E.coli* 64 включает следующие стадии: расфасовка препарата во флаконы; высушивание препарата, продолжительность всего процесса сушки – 70-72 ч., день окончания лиофилизации считают датой изготовления препарата.

Метод контроля препарата из штамма *E.coli* 64 включает следующие стадии:

Определение чистоты и типичности роста. Для испытания

использовали 5 флаконов с препаратом. Содержимое каждого флакона разводили в 5 см³ стерильного физиологического раствора. Проводили посев по 0,2 см³ из каждого флакона на МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом, среду Эндо. Через 24 ч. в чашках Петри с МПА наблюдали характерный рост: круглые с гладкой, выпуклой поверхностью, ровными краями колонии, на среде Эндо – колонии красно-малинового цвета. На жидких средах гомогенный рост в виде помутнения. В мазках культуры представлены в виде коротких палочек. По Грамму окрашиваются отрицательно, спор не образуют. Питательные среды с посевом выдерживали в течение 10 сут. при температуре 37-38°C. Препарат из штамма 64Г не содержал посторонней микрофлоры.

Определение безвредности. Безвредность содержимого каждого флакона препарата проверяли на 10-ти белых мышах массой 14-16 г, которым препарат вводили перорально, в дозе 10⁶ КОЕ в объеме 0,5 мл. Препарат считали безвредным, если в течение 10 сут. наблюдения все подопытные белые мыши оставались живыми.

Определение активности. Активность препарата проверяли на 20 белых мышах массой 14-16 г, из них 10-ти препарат вводили перорально в дозе 10⁷ КОЕ в объеме 0,5 см³. Спустя 24ч. все 10 подопытных и 10 контрольных белых мышей заражали перорально вирулентной культурой *E. coli* в смертельных дозах. В течение 10 сут. наблюдения все подопытные мыши выжили, при падеже всех контрольных мышей. Препарат изготовленный из штамма *E. coli* 64Г считали активным. После цехового контроля о возможности выпуска препарата к практическому применению флаконы этикировали с указанием наименования препарата, номера серии и даты изготовления.

Серией препарата считали определенное количество препарата, полученного в результате одноразового смешивания в одной емкости и имеющего одинаковую концентрацию живых микробных тел, одновременно расфасованного во флаконы, высушенного при одинаковом режиме и получившего свой номер, номер государственного контроля, оформленного одним документом о качестве (паспортом) с указанием в нем: наименования предприятия-изготовителя, наименование препарата, номера серии, номера госконтроля, даты изготовления (месяц, год), результатов испытания по показателям качества, срока годности, условия хранения, обозначения ТУ, номера и даты выдачи документа о качестве, заключения и подписи лица, выдавшего

документ. Препарат «Энтерокол» представляет собой сухую мелкопористую массу белого или серовато-желтого цвета, содержащую 60-70% живых микробных клеток, легко растворимую в физиологическом растворе, дистиллированной или кипяченной воде.

Результаты производственной апробации показали, что использование препарата «Энтерокол» из штамма *E. coli* 64Г значительно снижает заболеваемость телят, ягнят и поросят, улучшает их общее состояние организма, обеспечивает 95-100% сохранность молодняка животных, при 30-40% гибели контрольных животных. На препарат «Энтерокол»» получен патент за № 25918.

Выводы. Таким образом, на основании исследований получен штамм *E. coli* 64Г, отвечающий всем требованиям, предъявляемым к штаммам-пробиотикам, который:

- является нормальным обитателем желудочно-кишечного тракта здорового животного, непатогенный, не токсичный;
- метаболически активный в экосистеме желудочно-кишечного тракта;
- переносит пассаж через желудок;
- обладает способностью к адгезии на эпителии и приживанию в кишечном тракте;
- стабильный и способный длительное время оставаться жизнеспособными при хранении в производственных условиях;
- безопасный для молодняка сельскохозяйственных животных;
- имеет генетические маркеры для отличия его от штаммов естественного происхождения;

На основе аттенуированного штамма *E. coli* 64Г создан пробиотический препарат «Энтерокол» который может получить широкое применение для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний новорожденного молодняка животных и птиц.

Список литературы

- 1 Тутьян В.А., С.А. Шевелева, Н.Р. Ефимочкина. 8-й доклад Программы ВОЗ по контролю за пищевыми инфекциями и интоксикациями в Европе за 1999-2000 гг. Раздел: Российская Федерация. / FAO/WHO. - Берлин, 2003. – С. 45.
- 2 Шевелева С.А., Ефимочкина Н.Р. Анализ микробиологического риска как основа для совершенствования системы оценки безо-

пасности и контроля пищевых продуктов //Мат. X Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей. - М., 2007. - С.21-24.

3 Бондаренко В.М. Общий анализ представлений о патогенных и условно-патогенных бактериях. // Журн. микробиол.,1997. - № 4. - С. 20-26.

4 *Алямкин Ю.* Пробиотики вместо антибиотиков это реально // Птицеводство. - 2005. - № 2. - С. 17-18

5 Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической ситуации в Республике Казахстан в 2003 году». - Алматы, 2003. - С. 115-117.

6 *Pokhilenko, V.D.* Probiotics based on spore forming bacteria and their safety [Text] / E. Pokhilenko, V.V. Perelygin // Chemical and biological safety. 2007. - № 2.-P.32-34.

7 *Ushakova, N.A.* Generation of probiotic preparations fodder purposes [Text] / N.A. Ushakova, R.F. Nekrasov, V.G. Pravdin // Basic research. 2012. - № 1. - - P.41-44.

8 *Панин А.Н., Малик Н.И.* Пробиотики- неотъемлемый компонент рационального кормления животных //Ветеринария, 2006. - № 7. - С. 24-26.

Бияшев К.Б., доктор ветеринарных наук, профессор, e-mail: kadyr39@mail.ru

Киркимбаева Ж.С., доктор ветеринарных наук, профессор

Бияшев Б.К., доктор ветеринарных наук, профессор

Ермагамбетова С.Е., кандидат ветеринарных наук, профессор

Сарыбаева Д.А. доктор Ph., г.Алматы.