

**OBTAINING FEED ADDITIVES FROM WASTE OF FUR FARMING AS A WAY  
OF SOLVING THE PROBLEMS OF ECOLOGICAL SAFETY**

**Albumov A.I., Frolova M.A., Grin A.V., Gunko A.E.**

*All-Russian Scientific-Research and Technological Institute of Biological Industry RAAS,  
Shchelkovo, Russian Federation*

**Rogov R.V.**

*JSO «Bioprogress», Shchelkovo, Russian Federation*

*Selected to the industrial waste from fur farming obtained highly bioavailable protein hydrolysate suitable for use as a feed additive in the diet of feeding animals.*

*Purpose. The aim of this work was to develop an industrial method of producing a protein hydrolysate from carcasses of mink to use it as a source of amino acids for animals.*

*Materials and methods. As blocksdelaware raw materials to produce the protein hydrolysate used carcasses of mink (waste of fur farming).*

*The research results. Was developed optimal and economical industrial method of conducting hydrolysis. The resulting hydrolysate is a high quality protein product contains in its composition of free amino acids (including all essential), which, once in the body, rapidly absorbed without energy consumption. Protein hydrolysate contains at least 1000 mg% of free amino groups. The yield after spray drying is 8.8 to 10.1 % by weight of the starting raw material with a residual moisture content of not more than 5 % and the content of amine nitrogen of not less than 7.0 per cent. In hydrolysate prevails in lysine, threonine, phenylalanine, leucine, isoleucine, and arginine and glutamic acid.*

*Conclusions. 1. The possibility of effective use of waste fur farming (mink carcasses) as the source blocksdelaware raw materials for the no cost energy. Received feed additive recommended for use in the composition of the diet in animal feeding.*

*2. The hydrolysate from carcasses of mink is highly bioavailable protein product containing free amino acids (including all essential), which are easily absorbed in the gastrointestinal tract of animals without energy consumption. Received feed additive recommended for use in the composition of the diet in animal feeding.*

**Keywords:** fur farming, blocksdelaware raw, protein hydrolysate, feed additive.

**УДК 614.3:637.05:613.281:636.5.033:579.862.4**

**ПРИМЕНЕНИЕ КУЛЬТУРЫ *AEROCOCCUS VIRIDANS* (ШТАММ) VI-07 ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ  
БИОБЕЗОПАСНОСТИ МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ ПТИЦЕВОДСТВА**

**Бибен И.А.**

*Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет,  
г. Днепропетровск, Украина, e-mail: bibenvet@ukr.net*

*Макроорганизм является открытой системой и постоянно потребляет из окружающей среды информацию, энергию и структурные компоненты. В поддержании микробиального гомеостаза внутренней среды важную роль играют состояние иммунореактивности и резидентная микрофлора, в том числе азрококки. От здоровых цыплят была изолирована зубиотическая культура *Aerococcus viridans* штамм VI-07 и использована как пробиотик при выращивании цыплят-бройлеров в качестве альтернативы антибиотикопротекции от инфекционных пневмоэнтеритов. Азрококки оказали благотворное влияние на физиологические функции макроорганизма, приживались в кишечнике, стимулировали иммунореактивность и проявили противомикробную активность в отношении бактериальных инфектопатогенов.*

**Ключевые слова:** культура зубиотика, *Aerococcus viridans* штамм VI-07, цыплята-бройлеры, альтернатива антибиотикопротекции, иммунитет, неспецифическая реактивность, качество и биобезопасность.

Нормальная микрофлора макроорганизма играет важнейшую роль в поддержании высокого физиологического статуса и иммунореактивности, является источником БАВ, активным метаболическим и детоксикационным диффузным органом, детерминирует формирование общего и местного иммунитета, выполняют барьерную функцию в отношении биотических и абиотических патогенов внешней среды. Поэтому взаимоотношения в системе «микробиоценоз-макроорганизм» имеют важное значение для обеспечения жизнедеятельности организма [1, 2, 4, 7, 11].

Приспособительные реакции микробиоценозов макроорганизма на повреждающие факторы окружающей среды нельзя отнести к истинной адаптации, так как они носят компенсаторный характер и при интенсивном и длительном воздействии экзотоксикантов истощаются с исходом в патологические процессы различной локализации, тяжести и сложности коррекции [1, 7–10].

Одним из симбионтов микробиоценоза кишечника, обладающих антагонистическими свойствами в отношении инфекционных патогенов и оказывающих ярко выраженное положительное влияние на жизнедеятельность макроорганизма является *Aerococcus viridans* – представитель нормальной микрофлоры. Это убиквитарный аэрококк, выделяется у здоровых млекопитающих животных и птиц из кишечника, респираторного тракта и окружающей среды – воздуха, кормов, молока, навоза и помета. Высеваемость аэрококков резко снижается при возникновении воспалительных процессов в слизистых оболочках кишечника, дыхательной системы и вымени, то есть это индикаторный микроб для состояния здоровья [3, 5, 6, 8, 10, 11].

**Цель исследования:** испытать полевою культуру *Aerococcus viridans* штамм ВІ-07 при выращивании цыплят-бройлеров в качестве альтернативы антибиотикам для повышения санитарного качества и продовольственной безопасности мясной продукции.

**Материалы и методы.** Микробиологические исследования проводили в лаборатории бактериологии Днепропетровской ГЛВМ по стандартным методикам при культуральной изоляции аэрококков, а идентификацию микроорганизмов проводили используя ключ распознавания видовой принадлежности бактерий согласно определителя Берджи [1997].

Морфологические, гематологические и иммунологические исследования выполнены в НИЦ биобезопасности и экологического контроля ресурсов АПК Днепропетровского ГАЭУ.

Количественное определение содержания эритроцитов и лейкоцитов проводили с помощью окраски по Фриеду и Лукачевой в модификации Болотникова И.А. [1980]. Содержание гемоглобина определяли по Сали.

Для определения количества Т-лимфоцитов использовали Ig, полученных иммунизацией кроликов тимоцитами кур. Количественное определение В-лимфоцитов осуществляли подсчетом мононуклеаров, несущих мембранные маркеры (поверхностные Ig и рецепторы к C<sub>3</sub> компоненту комплемента).

Опсон-фагоцитарную реакцию (ОФР) ставили по Воронину Е.С. и др. [2002] с *Staphylococcus aureus* 209. Культуру инкубировали сутки на МПА при 37–38 °С. Для получения бакантигена, по оптическому стандарту мутности приготовили суспензию в 0,9 % растворе NaCl с концентрацией  $2 \times 10^9$  м.к./см<sup>3</sup> и прогрели на водяной бане при 70 °С в течение 30 мин.

Подсчет фагоцитированных бактерий проводили в 100 нейтрофилах. На основании подсчета определяли фагоцитарный индекс (ФИ) – среднее число захваченных одним нейтрофилом стафилококков и фагоцитарную активность (ФА) – процент фагоцитирующих нейтрофилов.

Бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) определяли колориметрическим методом по Смирновой О.В. и Кузьминой Т.А. [1966] с тест-культурой *Escherichia coli*.

Лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК) проводили фотоэлектроколориметрическим методом по Дорофейчук А.Г. [1979] с использованием тест-культуры *Micrococcus lysodeiaticus*.

Полученные количественные показатели обработаны на PC с помощью пакета статистических программ «Statistica» и программы Excel 2000.

**Результаты исследований.** Изучение влияния пробиотического препарата на основе культуры *Aerococcus viridans* штамм ВІ-07 на организм цыплят-бройлеров на начальном этапе их жизни проводили в условиях птицефабрики «Агроцентр». Для эксперимента выбрали методом случайного бесповторного отбора опытную и контрольную группу цыплят-аналогов породы «Новоген-Браун» по 100 голов в каждой. Цыплята содержались в клетках «БКМ», которые были изолированы одна от другой в разных помещениях с различным обслуживающим персоналом. Кормление производили по стандартным рационам, разработанным специалистами хозяйства. В опытной группе были полностью отменены антибиотики, в контрольной группе применялись разнообразные прописи антибиотиков, по отработанным ранее схемам. Эксперимент стартовал с 7 суточного возраста и продолжался до конца первого периода откорма – 41 сутки.

В качестве альтернативы антибиотикопротекции от негативного воздействия на организм условно-патогенной микрофлоры кишечника, применили зубиотик *Aerococcus viridans* штамм ВІ-07 в виде бульонной культуры с накоплением до  $3 \times 10^9$  ж.м.к./см<sup>3</sup>. Первую неделю задавали зубиотик в дозе один см<sup>3</sup> бульона на голову, вторую неделю – два см<sup>3</sup>, и далее до конца эксперимента – по три см<sup>3</sup> питательной среды с аэрококком.

Для доказательства приживаемости аэрококков в организме цыплят опытной группы отбирали помет в предварительно взвешенные пробирки и добавляли изотонический раствор NaCl до разведения  $10^{-1}$ , и далее уменьшали концентрацию до  $10^{-6}$ . На МПА производили посев помета из разведений  $10^{-5}$ – $10^{-6}$ . Инкубировали сутки при 37–38 °С. В результате бактериологического контроля установили, что аэрококки активно колонизируют внутреннюю среду организма цыплят-бройлеров и приживаются в кишечнике, о чем свидетельствует изоляция исходной культуры зубиотика *Aerococcus viridans* штамм ВІ-07 из помета цыплят в концентрации  $10^6$ – $10^8$  ж.м.к./г. Аэрококки продолжали выделяться и после окончания эксперимента в течение всего срока наблюдения (10 суток).

Для изучения влияния культуры аэрококка на физиологическое состояние организма цыплят в процессе роста провели измерение массы тела и центральных органов иммунной системы, таких как тимус, печень, селезенка, бурса Фабрициуса на 7 и 41 день эксперимента, и сравнили полученные результаты в опытной и контрольной группах.

К концу эксперимента разница между показателями цыплят опытной и контрольной групп составила по живой массе (в граммах): – тела 104 г (1672,3±31,2–1168,4±33,6); – тимуса 3,1 (9,4±0,2–6,3±0,1); – печени 11,2 (44,6±3,4–33,4±2,7); – селезенки 0,37 (2,83±0,1–2,46±0,2); – бурсе Фабрициуса 0,71 (1,49±0,04–0,68±0,02), при P≤0,05.

Полученные экспериментальные данные о различии в накоплении живой массы тела и центральных органов иммунопоэза говорит о том, что организм цыплят опытной группы под воздействием аэрококков развивается физиологически более активно и имеет лучшие показатели привеса, морфологически более развитые центральные органы иммунной системы, что в целом

свидетельствует о более высокой жизнеспособности и уровне неспецифической иммунобиологической резистентности индуцированной применением зубиотической культуры аэрококков.

При исследовании гематологических показателей крови цыплят-бройлеров была зарегистрирована положительная динамика колебаний в количественных значениях морфологических показателей крови в опытной группе получавших культуру аэрококков, которая соответствовала физиологической норме данной возрастной группы, что не наблюдается в контрольной группе, с статистической значимостью не ниже  $P \leq 0,05$ .

Уже на 21 сутки количество эозинофилов у цыплят опытной группы уменьшилось по сравнению с контрольными на 1,6 %, количество псевдоэозинофилов увеличилось на 2,3 %, количество лимфоцитов – на 3,5 %.

Выявлена также возрастная динамика колебания морфологических показателей. Так, в опытной группе на 21 сутки количество эозинофилов и псевдоэозинофилов уменьшилось на 21,2 % и 34,8 %, количество лимфоцитов увеличилось на 25 % по сравнению с началом эксперимента. У цыплят контрольной группы к 21 суткам количество эозинофилов и псевдоэозинофилов уменьшилось соответственно на 19,9 % и 33,3 %, а количество лимфоцитов увеличилось на 23,8 % по сравнению с первоначальным количеством.

На 41 сутки количество эозинофилов у цыплят опытной группы уменьшилось на 1,7 % по сравнению с контролем. Количество псевдоэозинофилов у бройлеров опытной и контрольной групп находилось на одном уровне. Количество лимфоцитов у цыплят опытной группы увеличилось по сравнению с контрольной – на 0,4 %.

При анализе возрастной динамики установлено, что в опытной группе на 41 сутки количество базофилов, эозинофилов, псевдоэозинофилов и моноцитов уменьшилось, соответственно на 24,6 %, 19,6 %, 43,5 % и 17 %, количество лимфоцитов увеличилось на 63,3 % по сравнению с количеством этих клеток на 21 сутки эксперимента.

В контрольной группе на 41 сутки жизни количество базофилов, эозинофилов, псевдоэозинофилов и моноцитов уменьшилось, соответственно на 24,6 %, 19,4 %, 44,9 % и 17 %, количество лимфоцитов увеличилось на 68,4 % по сравнению с их количеством на 21 сутки опыта.

Результаты исследований количественных показателей клеточных и гуморальных параметров функциональной активности иммунного потенциала организма цыплят свидетельствуют о том, что количество эритроцитов и гемоглобина с возрастом повышалось в обеих группах, но у цыплят опытной группы динамика этих изменений более выражена. Так, количество эритроцитов на 41 сутки у бройлеров опытной группы превышает контроль на  $0,61 \times 10^{12}/л$  или 21 %, а уровень гемоглобина на – 131,0 г/л или 13 % выше, чем в контрольной группе, что говорит об увеличенной кислородной емкости крови и более высокой насыщенности эритроцитов гемоглобином у цыплят, получавших зубиотическую культуру аэрококков.

Для оценки функциональной активности гуморальных факторов неспецифической резистентности цыплят определили БАСВ и ЛАСВ. Установили, что с увеличением возраста эти показатели повышается обеих группах, но в опытной – эти показатели выше. Так, в опытной группе на 41 сутки лизоцимная активность была выше на 3,44 %, а бактерицидная – на 3,8 %, чем в группе сравнения.

Анализируя количественные показатели белой крови, можно отметить, что количество Т-лимфоцитов в обеих группах в начале эксперимента были ниже физиологической нормы. К концу опыта в периферической крови у цыплят опытной группы содержание Т-лимфоцитов было выше чем в контроле, где данный показатель оставался ниже нормы. Относительное содержание В-лимфоцитов в периферической крови в конце опытного периода у цыплят, получавших аэрококки также было выше, чем в контроле. К концу опыта содержание Т- и В-лимфоцитов в периферической крови цыплят опытной группы превысило показатели контрольной группы.

Фагоцитарная активность нейтрофилов была стабильно более высокой у цыплят опытной группы. Эти показатели имели и положительную возрастную динамику, указывающую на превосходство уровня фагоцитарной активности в опытной группе, по сравнению с контролем. Так же в опытной группе был выше фагоцитарный индекс в сравнении с контрольной группой. Это говорит о том, что в опытной группе более высокая поглотительная способность нейтрофилов крови. Полученные количественные показатели гематологических исследований свидетельствуют о том, что цыплята получавшие культуру зубиотика имели более высокие показатели неспецифической резистентности макроорганизма.

Противомикробную антагонистическую активность реизолированной из помета цыплят культуры *Aerococcus viridans* штамм ВІ-07 изучили культуральным методом по величине зоны задержки роста на плотных средах в отношении некоторых микроорганизмов, которые удалось изолировать в монокультуре из объектов окружающей среды рутинными методами. В порядке убывания количественных значений располагаем средние величины ( $M \pm m$ ) зоны подавления роста тест-объекта в мм: *Staphylococcus aureus* –  $22,6 \pm 3,4$ ; *Staphylococcus epidermidis* –  $19,8 \pm 3,3$ ; *Streptococcus pneumonia* –  $18,4 \pm 2,9$ ; *Clostridium perfringens* –  $12,6 \pm 2,1$ ; *Escherichia coli* –  $12,4 \pm 1,9$ ; *Clostridium sporogenes* –  $11,8 \pm 2,2$ ; *Salmonella typhimurium* –  $9,8 \pm 1,9$ . Приведенные данные свидетельствуют о выраженной противомикробной активности зубиотического штамма аэрококка в отношении испытанных тест-объектов. Выраженность противомикробной активности различна, но незначительно, что по видимому связано с степенью активности антиоксидантных ферментных систем исследованных микроорганизмов. Противомикробная активность является важным биологическим качеством аэрококков и детерминирует его полезное воздействие на микробиоценоз кишечника и организм в целом.

Изучение физиологического влияния на макроорганизм, биологической активности и противомикробных потенциалов культуры *Aerococcus viridans* штамм ВІ-07 в отношении облигатных и факультативных возбудителей инфекционной патологии является важным и востребованным направлением дальнейшего изучения биологических свойств зубиотического штамма аэрококков.

**Выводы.** 1. Бактериальная культура *Aerococcus viridans* штамм ВІ-07 при пероральном применении легко приживается в организме в оптимальном количественном соотношении и регулярно изолируется из помета saniруемой птицы

с накоплением  $10^6$ – $10^8$  ж.м.к./г, регистрируется на объектах окружающей среды и обладает выраженной противомикробной активностью и протективными свойствами в отношении условно-патогенных микроорганизмов.

2. Использование бульонной культуры *Aerococcus viridans* штамм BI-07 вместо набора антибиотиков на начальном этапе откорма эффективно предохраняет цыплят-бройлеров от инфекционной патологии с диарейным и респираторным синдромом банального происхождения, повышает привесы и увеличивает сохранность поголовья, при этом получают биобезопасную мясную продукцию высокого продовольственного качества, полностью свободную от остатков антибиотиков.

#### Список литературы

1. Бабин, В.Н. Молекулярные аспекты симбиоза в системе хозяин-микробиота [Текст] / В.Н. Бабин, О.Н. Минушкин, А.В. Дубинин и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1998. - № 6. – С. 76-82.
2. Олескин, А.В. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов [Текст] / А.В. Олескин, И.В. Ботвинко, Е.А. Цавкелова // Микробиология. – 2000. – Т. 69, № 3. – С. 309-327.
3. Скулачев, В.П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода [Текст] / В.П. Скулачев // Соросов. образоват. журн. – 2001. – Т. 7, № 5. – С. 4-10.
4. Хавкин, А.И. Микробиоз кишечника и иммунитет [Текст] / А.И. Хавкин // Рус. мед. журн. – 2003. – Т. 11, № 3. – С. 122-125.
5. Чеканова, Ю.А. Цитохимическая локализация перекиси водорода и супероксидного радикала в клетках бесцветных серобактерий [Текст] / Ю.А. Чеканова, Г.А. Дубинина // Микробиология. – 1990. - Т. 59, Вып. 5. – С. 856-861.
6. Черняев, С.А. Гетерогенность бактерий рода *Aerococcus* и их роль в разработке новых пробиотиков и контроле их аутентичности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 25.10.02. – Харьков, 2002. – 22 с.
7. Sazawal, S. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials [Text] / S. Sazawal, G. Hiremath, U. Dhingra e.a. // Lancet Infect. Dis. – 2006. - № 6. – P. 374-382.
8. Szajewska, H. Probiotics in the prevention of antibiotics – associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized Controlled trials [Text] / H. Szajewska, M. Ruszczynski, A. Radzikowski // J. Pediatr. – 2006. - № 149 (3). – P. 367-372.
9. Pelucchi, C. Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis [Text] / C. Pelucchi, L. Chatenoud, F. Turati e. a. // Epidemiology. – 2012. - № 23 (3). – P. 410-414.
10. Khan, M. Growth-promoting effects of single-dose intragastrically administered probiotics in chickens [Text] / M. Khan, D. Raoult, H. Richeta // British Poultry Science. – 2007. - № 48 (6). – P. 732-735.
11. West, N.P. Probiotics, immunity and exercise: a review [Text] / N.P. West, D.B. Pyne, J.M. Peake e.a. // Exerc. Immunol. Rev. – 2009. - № 15 (107). – P. 107-126.

#### APPLICATION OF CULTURE *AEROCOCCUS VIRIDANS* STRAIN BI-07 TO IMPROVE Biosafety POULTRY MEAT

*Biben I.A.*

*Dnepropetrovsk State University of Agrarno-Economic, Dnepropetrovsk, Ukraine*

*One of the promising areas of modernization of the existing system of keeping poultry is the widespread use of probiotics useful eubiotic resident intestinal microflora, as an alternative to antibiotic protective. One of the very useful microbionic bowel having antagonistic properties against infectious pathogens and have a pronounced positive impact on the livelihoods of the microorganism is *Aerococcus viridans* – representative of the normal microflora.*

*The aim the study was to test the culture *Aerococcus viridans* strain BI-07 broilers.*

*We used bacteriological and immunological techniques aimed at state registration of immunobiological resistance microorganism under the influence aerococccuses.*

*It has been established that the use of broth culture *Aerococcus viridans* strain BI-07 instead of a set of antibiotics effectively protects broiler chickens from infectious diarrheal disease and respiratory syndrome banal origin, increases weight gain and increases the safety of livestock, obtaining meat products Biosafety high food quality, completely free of antibiotic residues.*

*Bacterial culture *Aerococcus viridans* strain BI-07 when administered orally to easily take root in the body in optimal quantitative ratio and regularly isolated from poultry litter rehabilitated with accumulation  $10^6$ – $10^8$  I.m.c./g, recorded on the environment and has a pronounced antimicrobial activity and protective properties against opportunistic mikrobiont.*

**Keywords:** culture eubiotics, *Aerococcus viridans* strain BI-07, broilers, alternative antibioticoprotective, immunity, nonspecific reactivity, quality and biosafety.