



УДК 630:576.8:632

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ, ОБУСЛОВЛЕННОМ ДЕЙСТВИЕМ ДЕЛЬТА-ЭНДОТОКСИНА *BACILLUS THURINGIENSIS*¹

Е.Г. Климентова
Л.К. Каменек
А.А. Купцова

Ульяновский государственный
университет

432700 г. Ульяновск,
ул. Л. Толстого, 42,
E-mail: kloushel@mail.ru

Показано изменение видового состава и численности различных представителей микробиоты толстого кишечника теплокровных животных под влиянием перорального введения дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* в дозе от 100 мг/кг веса. При этом подавлялся рост нормальной микрофлоры в толстой кишке - бифидобактерий, лактобактерий, бактероидной микрофлоры и эшерихий с нормальной ферментативной активностью. В результате снижения количества представителей облигатной микрофлоры размножались микробы, попавшие извне или эндогенные виды, устойчивые к лекарственным препаратам – стафилококки, в том числе и самый патогенный вид – *S. aureus*, а также клебсиеллы, протей и дрожжевые грибы. При постоянном введении больших доз токсина изменялись также индекс встречаемости и индекс доминирования микроорганизмов.

Ключевые слова: дельта-эндотоксин *Bacillus thuringiensis*, микрофлора кишечника, дисбактериоз.

Введение

Актуальность проблемы. Известно, что *Cry*-белки параспоральных кристаллов, образуемые множеством подвидов энтомопатогенной бактерии *B. thuringiensis* с высокой специфичностью поражают некоторых насекомых, нематод, клещей, являющихся вредителями растений и переносчиками болезней. Поэтому на основе кристаллов и спор *B. thuringiensis* выпускается более 80% всех производимых в мире биоинсектицидов, в их числе такие препараты, разрешенные к применению в России, как лепидоцид, битоксибациллин, новодор *FC* и форей 48 *B*.

В последнее время в различных источниках появляется все больше публикаций о неблагоприятных последствиях для здоровья человека применения биопрепаратов на основе *B. thuringiensis*. Так, весной 2009 года, в лесистых районах западной части города Лондона, а также в провинции Онтарио (Канада), после вспышки размножения личинок непарного шелкопряда и использования для ее подавления воздушного распыления препарата «*Foray 48 B*» на основе *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, жители района стали жаловаться на проблемы со здоровьем: боль в животе, затрудненное дыхание, боль в горле, тошноту, рвоту, сильный кашель, жжение в глазах, диарею, мышечные судороги, сонливость, слабость, и головокружение. Данные симптомы говорят о том, что препарат, возможно, обладает не только местным, кожно-резорбтивным действием, но также может вызывать аллергию и отравление [1].

На сайте Общества по контролю чрезмерного применения пестицидов [2] сообщается о 290 инцидентах, связанных с 51 симптомами, включая тошноту, рвоту, спазмы, диарею, обострение астмы и случаями мучительного зуда также после применения биопрепаратов на основе *B. thuringiensis*. Особый интерес представляет исследование Дамгаард и соавторов [3]. Авторами были изучены различные штаммы *B. thuringiensis* из инсектицидных препаратов. Было обнаружено, что все они способны вырабатывать диарейный энтеротоксин человека.

Известно, что бактерии рода *Bacillus* обладают выраженной антимикробной

¹ Работа выполнена при поддержке гранта МО РФ аналитической ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы (2009-2010 годы)» по проекту № 2.1.1/2275.



активностью, обусловленной продуцированием антибиотических веществ. В настоящее время известно о более чем 200 антибиотиках и бактерицинах, образуемых этими микроорганизмами [4]. Данные об антибактериальном действии *Cry*-белков параспиральных кристаллов *B. thuringiensis* или их фрагментов на микроорганизмы появились сравнительно недавно [5–10]. Изучение действия белков включений важно так же для всестороннего понимания экологической роли включений в биоценозах, в том числе и в микробиоценозах желудочно-кишечного тракта теплокровных животных, куда токсические белки могут поступать вместе с продукцией, обработанной биопестицидами на основе дельта-эндотоксинов.

Организм теплокровных животных и человека и его микробиота представляют собой высокоорганизованную, саморегулирующуюся систему, «обеспечивающую поддержание равновесия компонентов внутренней среды организма на метаболическом, клеточном и молекулярно-генетическом уровнях» [11]. Сбалансированность системы «хозяин–микрофлора» может нарушаться «при превышении интенсивности негативных внешних воздействий над пороговыми значениями адаптационной системы организма» [12] и при сдвигах в метаболической активности самой микрофлоры [13]. Одной из наиболее частых причин нарушений в рассматриваемой системе является воздействие на нее антибактериальными препаратами белкового происхождения. Показано, что антибиотики изменяют количественный и качественный состав аутохтонной микрофлоры организма, оказывают прямое воздействие на клетки и метаболические процессы в них [14]. Установлено, что у 5–25% пациентов, получающих антибиотики, наблюдается антибиотико-ассоциированная диарея («antibiotic associated diarrhea»), чаще называемая «лекарственно опосредованным дисбиозом кишечника» [15]. Следует отметить, что дисбиоз характеризуется снижением популяционного уровня или полным исчезновением некоторых облигатных представителей нормальной микрофлоры и увеличением частоты выявления концентрации представителей факультативной ее части. Такие дисбиозные микробные ассоциации не в состоянии выполнять защитные и физиологические функции в кишечнике, которые они осуществляют в условиях нормоценоза. Нарушения при микробиоценозе кишечника наступают задолго до клинических проявлений и служат обычно предшественником развития соматических заболеваний [16].

Целью исследования явилось изучить действие дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* Z-52 на изменение количественных и качественных показателей микробиоты кишечника теплокровных животных.

Объекты и методы исследований. В работе был использован штамм Z-52 *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, продуцирующий кристаллы дельта-эндотоксина класса *Cry IA*, полученный из коллекции культур микроорганизмов Всероссийского института защиты растений (ВИЗР), г. Пушкин Ленинградской области. Культуру выращивали на питательной среде № 14 при температуре 27°C. На 3–4 сутки культивирования при спорообразовании в пределах 80–90% выделяли дельта-эндотоксин с применением модифицированного метода Л.К. Каменёк [17]. Выделенные и очищенные от спор кристаллы дельта-эндотоксина предварительно активировали по методике Кукси [18]. Кристаллы дельта-эндотоксина разводили в 0,9% растворе *NaCl* и в различных дозах вводили животным перорально вместе с пищей.

В эксперименте использовали 360 белых беспородных мышей – самок со средним весом 30±3 г. Содержание, питание, уход за животными осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 № 755). Все животные содержались в виварии УЛГУ при сходных условиях в отношении температуры, влажности и освещения, а также рациона питания. Животные содержались в клетках по 10 особей. Перед проведением каждой из серий экспериментов животные были разделены на четыре группы (по 90 животных в каждой группе). Первая группа – контрольная, вторая группа животных ежедневно в одно и то же время (первая половина дня) получала перорально в течение 28 дней дельта-эндотоксин в количестве 25 мг/кг веса чистого вещества, растворенного в буферном растворе, вторая и третья группа – по 50 и 100 мг/кг веса, что составило 0,03–0,0075 мг на особь, соответственно. На протяжении всего эксперимента наблюдали за физической активностью животных, аппетитом



(количество съеденной пищи), характером стула. В 7, 14 и 20-й дни эксперимента забирали пробы фекалий для проведения бактериологического исследования микрофлоры толстой кишки.

Микроорганизмы выделялись из фекалий животных с использованием классических бактериологических методик. Выделение чистой культуры и идентификация проводились в аэробных, анаэробных и микроаэрофильных условиях в термостате при температуре 37°C в течение 24-48 часов. Культуры, выросшие на питательных средах, подвергались групповой и видовой идентификации. Анализ выделенных микроорганизмов проводили согласно определителю Берджи [19] по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим (с помощью мультимикротестов *ММТ E1*, *ММТ E2 Lachema* тест-систем) и антигенным свойствам. Наличие гемолитических эшерихий учитывали на кровяном агаре из разведения 10^{-5} . Количественное содержание выделенных микроорганизмов выражали в виде *Ig* КОЕ/г.

Определение индекса встречаемости при пероральном введении дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* в дозе 100 мг/кг веса проводили по числу проб, в которых обнаружены особи исследуемого вида, выраженных в процентах к общему числу проанализированных проб. Определение индекса доминирования – доли в %, которую составляет обилие исследуемого вида по отношению к суммарному обилию всех сравниваемых между собой видов в изучаемом материале. При оценке результатов учитывали, что при $C = 50\%$ и выше виды считаются постоянными, добавочные виды соответствуют значениям C от 25 до 50%, случайные – ниже 25%.

Все материалы были подвергнуты статистической обработке с использованием методов статистического и вариационного анализа. Различия между величинами считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. В настоящем исследовании к концу второй недели после введения дельта-эндотоксина в дозе 100 мг/кг веса у экспериментальных животных в 25-50% случаев (т.е. у 25-45 особей из 90) отмечались и сохранялись в течение всего периода эксперимента следующие симптомы: понос, изменение консистенции стула, ухудшение аппетита, снижение поведенческой активности. Степень проявления симптомов у 30 особей возрастала по мере увеличения срока применения токсина.

Показано, что при дисбиозе кишечника, в частности, при антибиотико-ассоциированной диарее наблюдается доминирование каких-либо условно-патогенных микроорганизмов (стафилококков, псевдомонад, клебсиелл, протей, эшерихий с низкой ферментативной активностью, клостридий и грибов) или их ассоциаций [20, 21].

В результате проведенных нами бактериологических исследований фекалий животных было установлено, что пероральное введение дельта-эндотоксина в дозах от 25 до 50 мг/кг веса практически не оказывало влияния на изменение состава и численности кишечной микрофлоры (табл. 1).

Таблица 1

Состав микрофлоры кишечника мышей при пероральном введении дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* (при $n = 9$)

Микроорганизмы	Количественное содержание микрофлоры Lg КОЕ/г				
	контроль	14 сутки		28 сутки	
	25-50 мг/кг веса	25 мг/кг веса	50 мг/кг веса	25 мг/кг веса	50 мг/кг веса
1	2	3	4	5	6
доминирующие виды (встречаются в 50-100% случаев)					
<i>Bifidobacterium spp.</i>	6.4±0.13	6.2±0.10	6.1±0.2	6.2±0.15	6.0±0.3
<i>Lactobacillus spp.</i>	13.9±0.96	12.9±0.20	12.0±0.4	12.0±0.18	11.5±0.8
<i>Bacteroides</i>	4.5±0.11	4.35±0.15	4.2±0.2	4.3±0.20	4.1±0.3
<i>Escherichia coli</i> типичные	7.4±0.16	7.3±0.10	7.1±0.3	7.2±0.25	7.0±0.4
добавочные виды (встречаются в 25-50% случаев)					
<i>Escherichia coli</i> (гем)	-	-	-	-	-



Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6
<i>Klebsiella spp</i>	1.03±0.01	1.1±0.1	1.2±0.1	1.1±0.3	1.2±0.2
<i>Proteus spp.</i>	2.7±0.84	2.8±0.40	2.8±0.5	2.8±0.3	3.0±1.0
случайные или транзиторные виды (встречаются менее чем в 25% случаев)					
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-
Дрожжеподобные грибы р. <i>Candida</i>	1.0±0.03	1.1±0.2	1.1±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1

Несмотря на то, что *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.*, обнаруживаются в составе микрофлоры кишечника у всех экспериментальных животных (частота встречаемости – 100%), их количество при пероральном введении дельта-эндотоксина в дозе от 25 до 50 мг/кг веса умеренно снижается. Наблюдается так же и некоторая тенденция к уменьшению количества эшерихий с нормальной ферментативной активностью и бактериоидной микрофлоры. Уменьшение количества доминирующих видов *Bacteroides* и *Escherichia coli* с нормальной ферментативной активностью (типичных) не является статистически достоверным.

В результате снижения количества представителей облигатной микрофлоры размножаются микробы, попавшие извне или эндогенные виды, устойчивые к лекарственным препаратам – стафилококки, в том числе и самый патогенный вид – *S. aureus*, а также *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* и дрожжеподобные грибы р. *Candida*. Их количество в микроценозе несколько увеличивается, но это увеличение при математической обработке результатов так же оказалось статистически недостоверным, то есть можно говорить только о некоторой тенденции к снижению или увеличению количества бактерий. Такие патогенные виды, как *E. coli* гемолитические и *St. aureus* из состава микробиоты кишечника мышей при пероральном введении дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* (25-50 мг/кг веса) не выделялись.

При введении высоких доз препарата (100 мг/кг, табл. 2) подавлялся рост нормальной микрофлоры в толстой кишке: количество доминирующих видов – бифидобактерий – на 14 и 28 сутки после начала перорального введения уменьшалось по сравнению с контролем, соответственно, с 6.4 до 6.0 и 5.9 lg КОЕ/г, а лактобактерий – с 13.9 до 11.0 и 10.6 lg КОЕ/г. Применение дельта-эндотоксина оказало влияние и на бактериоидную микрофлору: в контроле их количество составляло 4.5 lg КОЕ/г, а на 14 сутки 4.1 lg КОЕ/г и на 28 сутки – 3.9 lg КОЕ/г. Число эшерихий с нормальной ферментативной активностью сократилось с 7.4 lg КОЕ/г – в контроле до 7.0 и 6.8 lg КОЕ/г на 14 и 28 сутки. Эшерихии, обладающие гемолитической активностью, в контрольной группе не наблюдались, и высевались лишь на 14 и 28 сутки в количестве 1.1 и 1.3 lg КОЕ/г.

Количество клебсиэлл увеличилось по сравнению с контрольной группой с 1,03 lg КОЕ/г до 1.4 и 1.6 lg КОЕ/г на 14 и 28 сутки соответственно, а протеи с 2.7 lg КОЕ/г до 3.0 и 3.3 lg КОЕ/г. Количество дрожжеподобных грибов рода *Candida* увеличивается с 1.0 до 1.3 и 1.5 lg КОЕ/г. Стафилококки высевались на 14 и 28 сутки, их число составило соответственно 1.2 и 1.4 lg КОЕ/г.

Таблица 2

Состав микробиоты кишечника мышей при пероральном введении дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* (100 мг/кг, при n = 9)

Микроорганизмы	Количественное содержание микробиоты Lg КОЕ/г		
	контроль	14 сутки	28 сутки
1	2	3	4
доминирующие виды (встречаются в 50-100% случаев)			
<i>Bifidobacterium spp.</i>	6.4±0.13	6.0±0.9	5.9±0.8
<i>Lactobacillus spp.</i>	13.9±0.96	11.0±0.6	10.6±0.7
<i>Bacteroides</i>	4.5±0.11	4.1±0.4	3.9±0.5
<i>Escherichia coli</i> (тип.)	7.4±0.16	7.0±0.3	6.8±0.5
добавочные виды (встречаются в 25-50% случаев)			
<i>Escherichia coli</i> (гем.)	-	1.1 ±0.1	1.3 ±0.1



Окончание табл. 2

1	2	3	4
<i>Klebsiella spp</i>	1.03±0.01	1.4±0.1	1.6±0.2
<i>Proteus spp.</i>	2.7±0.84	3.0±0.6	3.3±1.1
Случайные (транзиторные виды встречаются менее чем в 25% случаев)			
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	1.2 ±0.1	1.4 ±0.2
Дрожжеподобные грибы р. <i>Candida</i>	1.0±0.03	1.3±0.1	1.5±0.2

Данные по определению индекса встречаемости микроорганизмов при пероральном введении дельта-эндотоксина в дозе 100 мг/кг веса представлены в табл. 3. У бифидобактерий и лактобактерий индекс встречаемости составил 100%, т.е. во всех 35 пробах были обнаружены особи данного вида. Индекс встречаемости бактериоидной микрофлоры составил в контроле 58.4%, на 14 сутки уменьшился до 56.2 %, на 28 сутки – до 52.0%. Индекс эшерихий с нормальной ферментативной активностью уменьшился с 84.2% в контроле до 78.4 и 73.5% на 14 и 28 сутки соответственно.

На фоне снижения количества и частоты встречаемости представителей видов облигатной микрофлоры в пробах чаще стали высеваться добавочные и транзиторные виды – *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* и дрожжеподобные грибы р. *Candida*.

Если протей обнаруживались в контроле в 22.5% проб, то на 14 сутки частота их обнаружения увеличилась до 30.3%, а на 28 сутки – до 39.8%. У клебсиэлл индекс встречаемости увеличился гораздо сильнее – с 26.4% в контроле до 34.2% на 14 сутки и 42.5% на 28 сутки. Дрожжеподобные грибы р. *Candida* высеваются в 5.1% проб в контрольной группе, 14 сутки они обнаруживаются уже в 10.5% проб, а на 28 сутки – в 18.2%.

Особенностью микробиоценоза толстого кишечника теплокровных животных при дисбактериозе, вызванном пероральным введением высоких доз дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* является появление в микробном пуле гемолитических эшерихий и золотистого стафилококка, которые в контрольной группе не высевались. На 14 и 28 сутки эшерихии, обладающие гемолитической активностью, выявлялись в 15.0 и 22.5% проб, а *St. aureus* – в 11.7 и 15.6% проб соответственно.

Таблица 3

Индекс встречаемости микроорганизмов при пероральном введении дельта-эндотоксина в дозе 100 мг/кг веса

Микроорганизмы	Индекс встречаемости микроорганизмов		
	контроль	14 сутки	28 сутки
доминирующие виды (встречаются в 50-100% случаев)			
<i>Bifidobacterium spp.</i>	100.0	100.0	100.0
<i>Lactobacillus spp.</i>	100.0	100.0	100.0
<i>Bacteroides</i>	58.4±4.6	56.2±8.5	52.0±7.0
<i>Escherichia coli</i> (тип.)	84.2±11.2	78.4±10.5	73.5±10.8
добавочные виды (встречаются в 25-50% случаев)			
<i>Escherichia coli</i> (гем.)	0	15.0±2.4	22.5±5.3
<i>Klebsiella spp.</i>	26.4±2.4	34.2±4.3	42.5±6.3
<i>Proteus spp.</i>	22.5±3.8	30.3±6.2	39.8±7.7
случайные (транзиторные виды встречаются менее чем в 25% случаев)			
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	11.7±2.5	15.6±4.3
Дрожжеподобные грибы р. <i>Candida</i>	5.1±2.2	10.5±2.5	18.2±4.1

Для уточнения происхождения сдвигов в микробиоценозе колстой кишки определена доля участия микроорганизмов в структуре экосистемы (рисунок 1). Установлено, что доминантными видами, формирующими микрофлору в контрольной группе животных, или группе сравнения, являются лактобактерии, бифидобактерии, бактериоиды и кишечные палочки с нормальной ферментативной активностью, в совокупности их доля составляет почти 84%. Доля микроорганизмов условно-патогенной микрофлоры – клебсиэл, гемолитических эшерихий, протей, стафилококков и грибов рода *Candida* составила 6%.



На 14-е, и особенно на 28-е сутки эксперимента выявляется структурная перестройка биоценоза, которая проявляется в уменьшении значимости доминирующих групп микроорганизмов до 62 и 48% соответственно, и увеличением значимости условно-патогенных видов – до 48 и 52%. Важной особенностью микробиоценоза является появление на 14 сутки особенно патогенных видов – гемолитических *E. coli* и *St. aureus*.

Регистрируемые в микрофлоре толстой кишки различия в качественном и количественном составе симбионтов позволили предположить наличие определенных сопряженных таксонов, встречающихся совместно чаще в группах биоценозов контрольных животных, принимающих высокие дозы дельта-эндотоксина по сравнению с интактными животными.

При пероральном введении дельта-эндотоксина (100 мг/кг веса) в кишечнике мышей у доминирующих видов бактерий наблюдается некоторая тенденция к уменьшению индекса доминирования, так, у лактобактерий – на 14 сутки после начала перорального введения он уменьшился по сравнению с контролем соответственно на 11.7% – с 37.6% до 25.9% и на 28 сутки – на 21.3%. У бифидобактерий индекс доминирования уменьшился с 17.3% в контроле до 13.8% на 14 сутки и 11.7% – на 28 сутки. Применение дельта-эндотоксина оказало влияние на изменение индекса доминирования бактериоидной микрофлоры (12.8% -в контроле и 9.9% и 5.9% на 14 и 28 сутки соответственно), эшерихий с нормальной ферментативной активностью (20% – в контроле и 16% и 11.3% на 14-е и 28-е сутки).

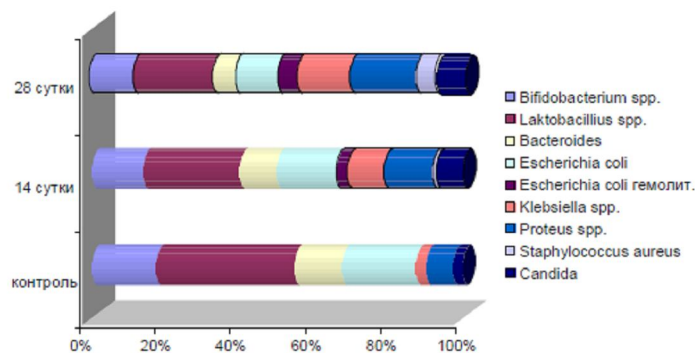


Рис. 1. Индекс доминирования микроорганизмов биоценоза кишечника мышей при пероральном введении дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* (100 мг/кг веса)

Эшерихии, обладающие гемолитической активностью, в контрольной группе не обнаруживаются, а на 14 и 28 сутки выявляются в количестве 3.1% и 5.3%. Доля клебсиэл в контроле была 2.7%, на 14 сутки их количество возросло до 9.8%, а на 28 сутки – до 14%. Доля протей увеличивается с 7.3% в контроле до 12.8% и 17.6% на 14 и 28 сутки. Количество дрожжеподобных грибов рода *Candida* увеличивается в 3 раза, а стафилококки, не обнаруживающиеся ранее в контроле, высеваются на 14 и 28 сутки в количестве 1.1% и 4.8%.

Заключение. Проведенное исследование позволило установить, что в составе микробиоценоза толстой кишки теплокровных животных после длительного потребления вместе с пищей высоких доз дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* (свыше 100 мг/кг веса животного), золотистый стафилококк и гемолитические эшерихии встречаются достоверно чаще, чем в составе микрофлоры кишечника интактных животных. Изменение состава толстой кишки свидетельствует о наличии микробиологического дисбаланса, характерной особенностью которого является снижение присутствия в составе микробиоценоза представителей облигатной микробиоты – *Bifidobacterium spp.*, и *Lactobacillus spp.*, *Bacteroides* и *Escherichia coli* с нормальной ферментативной активностью (типичных), на фоне увеличения количества транзиторных и добавочных условно-патогенных видов - *S.aureus*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* и дрожжеподобных грибы р. *Candida*.



Достаточно высокая концентрация гемолитических эшерихий (1.1-1.3 lg КОЕ/г), значительный показатель их постоянства (15.0-22.3%), позволяют полагать, что длительное потребление вместе с пищей высоких доз дельта-эндотоксина, возможно, является одним из факторов, способствующих появлению и вегетированию данной группы условно-патогенных микроорганизмов в микробиоценозе. То же можно сказать и о других видах условно-патогенных микроорганизмов – *S. aureus*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* и дрожжеподобных грибов р. *Candida*, что свидетельствует о дисбиотических изменениях в кишечнике. Возможно, что на их вегетирование оказывают влияние и другие факторы, что, несомненно, требует дальнейшего изучения.

Вероятно, длительное поступление значительного количества белкового дельта-эндотоксина в кишечник теплокровных животных ведет к развитию метаболических сдвигов, а появление условно-патогенных видов в составе микрофлоры в данном случае можно рассматривать как индикатор, реагирующий на изменение гомеостаза макроорганизма и создает предрасположенность для развития как инфекционных, так и соматических заболеваний.

Список литературы

1. Richard B. Philp Adverse health consequences following aerial spraying with *Bacillus thuringiensis* (var. *kurstaki*) (Btk) to control the gypsy moth: flaws in government risk assessments and in public health officials attitudes, University of Western Ontario, 2009.
2. Интернет-ресурс www.ben.ca/stop/part4.html.
3. Damgaard P.H., Larsen H.D., Hansen B.M., Bresciani J., Jørgensen K. Enterotoxin-producing strains of *Bacillus thuringiensis* isolated from food // Letters in Applied Microbiology. – 2008. – Vol. 23 – P. 146–150.
4. Осипова И.Г., Михайлова Н.А., Сорокулова И.Б. Споровые пробиотики // Микробиология. – 2002. – № 3. – С. 113–119.
5. Юдина Т.Г. Сравнение антибактериальной активности параспоральных включений различных бацилл. Известия РАН. Серия биол. – 1996. – № 5. – С. 535–541.
6. Юдина Т.Г., Егоров Н.С., Лория Ж.К., Выборных С.Н. Биологическая активность параспоральных кристаллов *Bacillus thuringiensis*. – Известия АН СССР. Серия биологич. – 1988. – № 3. – С. 427 – 436.
7. Егоров Н.С., Юдина Т.Г., Баранов А.Ю. О корреляции между инсектицидной и антибиотической активностями параспоральных кристаллов *Bacillus thuringiensis*. // Микробиология. – 1990. – Т. 59, вып. 3. – С. 448–452.
8. Юдина Т.Г., Егоров Н.С. Антимикробная активность белковых включений различных бактерий. – Доклады РАН. – 1996. – Т. 349, № 2. – С. 283–287.
9. Юдина Т.Г., Бурцева Л.И. Действие эндотоксинов четырех подвидов *Bacillus thuringiensis* на различных прокариот // Микробиология. 1997. – Т. 66. – № 1. – С. 25–31.
10. Cahan R., Friman H., Nitzan Y. Antibacterial activity of Cyt1Aa from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* // Microbiology. – 2008. – Vol. 154. – P. 3529–3536.
11. Rolfe R. D. Interactions among microorganisms of the indigenous intestinal flora and their influence on the host // Rev. Infect. Dis. – 1984. – Vol. 6, Suppl. 1. – P. 73–79.
12. Парфенов А.И., Ручкина И.Н., Осипов Г.А. Антибиотико-ассоциированная диарея // Экспер. и клин. гастроэнтерол. – 2002. – № 5. – С. 92–95.
13. Уголев А.М. Теория адекватного питания и трофология. – СПб., 1991. 271 с.
14. Лобзин Ю.В., Макарова В.Г., Кровякова Е.Р. Дисбактериоз кишечника (клиника, диагностика, лечение): Руководство для врачей. – СПб., 2003. – 256 с.
15. Костюкевич О.И. Современные представления о микробиоценозе кишечника: Дисбактериоз и его коррекция // РМЖ. – 2007. – 2176. www.rmj.ru
16. Барановский А.Ю., Кондрашин Э.А. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника. – СПб.: Питер, 2000. – 209 с.
17. Каменек Л.К. Способ получения эндотоксинсодержащих энтомопатогенных препаратов. – Патент РФ № 2027369. – 1995.
18. Кукси К.Э. Кристаллический белковый токсин *B. thuringiensis*: биохимия и механизм действия // Микроорганизмы в борьбе с вредными насекомыми и клещами. – М.: Колос, 1976. – С.198–218.
19. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – Мир, 1997. – 800 с.

20. McFarland L. Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic associated diarrhea // *Diagn. Dis.* – 1998. – Vol. 16. – P. 292–307.

21. Бондаренко В. М., Воробьев А. А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией // *Журн. микробиол.* – 2004. – № 1. – С. 84–92.

FEATURES OF THE MICROBIOTA OF THE LARGE INTESTINE OF WARM-BLOODED ANIMALS DURING DYSBACTERIOSIS DUE TO THE ACTION OF DELTA-ENDOTOXIN OF *BACILLUS THURINGIENSIS*

E.G. Klimentova
L.K. Kamenek
A.A. Kuptsova

*Ulyanovsk State University,
L.Tolstogo St., 42, Ulyanovsk,
432700, Russia*

E-mail: kloushel@mail.ru

The change in species composition and the number of various representatives of the large intestine microbiota of warm-blooded animals under the influence of oral administration of delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* at a dose of 100 mg / kg body weight is shown. The growth of normal microflora in the colon – *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, bacteroid microflora and *Escherichia* with normal enzymatic activity was suppressed. As a result of the reduction of the number of representatives of the obligate microflora microbes that penetrated from the outside or endogenous species that are resistant to drugs – staphylococci, including the most pathogenic form – *S. aureus*, and *Klebsiella* organisms, *Proteus*, and yeasts, multiplied. With the constant administration of high doses of the toxin the index of occurrence and the index of dominance of microorganisms varied as well.

Key words: delta-endotoxin *Bacillus thuringiensis*, intestinal microflora, dysbacteriosis.