

ВИЗНАЧЕННЯ АНТАГОНІСТИЧНИХ ТА АДГЕЗИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЛАКТОБАКТЕРІЙ ТА БІФІДОБАКТЕРІЙ

С.О. Гужвинська, А.П. Палій

*ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
вул. Пушкінська, 83, Харків, 61023, Україна
e-mail: aspirantura.iecvm@gmail.com*

Мета. Вивчити антагоністичні та адгезивні властивості штамів лактобактерій і біфідобактерій та відібрати перспективні мікроорганізми для виготовлення пробіотика для тварин та птиці. **Методи.** Об'єктом досліджень було 8 штамів лактобацил та 7 штамів біфідобактерій, які зберігаються у Національному науковому центрі «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». Антагоністичну активність лактобактерій та біфідобактерій визначали за методом відстроченого антагонізму. Адгезивні властивості мікроорганізмів визначали *in vitro* з використанням еритроцитів барана. Активність кислотоутворення досліджували в знежиреному молоці через 14 годин культивування. **Результати.** З 15 досліджених штамів було відібрано штами *Lactobacillus plantarum* 7, *L. plantarum* 22, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, *Bifidobacterium adolescentis* 17-316 та *B. adolescentis* 3, які проявили найбільшу антагоністичну активність щодо умовно-патогенних мікроорганізмів: *Escherichia coli* K 99, *Staphylococcus epidermidis* M, *S. aureus* 209, *Salmonella dublin* 12, *Pseudomonas aeruginosa* 34/2. Індекси адгезивності досліджуваних культур коливалися від $1,8 \pm 0,5$ до $6,7 \pm 1,6$. Активність кислотоутворення в молоці складала від 60° до 160 Т у лактобактерій і від 64 до 140 Т у штамів біфідобактерій. **Висновки.** В результаті послідовного відбору за антагоністичними і адгезивними властивостями відібрано штами *L. plantarum* 7, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, *B. adolescentis* 17 та *B. adolescentis* 17-316, які є перспективними для розробки на їх основі вітчизняного пробіотика для тварин та птиці.

Ключові слова: антагоністична активність, адгезивні властивості, лактобактерії, біфідобактерії, пробіотики.

Фундаментальними і прикладними дослідженнями в останні роки показана визначальна роль для здоров'я людини представників корисної мікрофлори – молочнокислих бактерій і біфідобактерій. Ці групи мікроорганізмів вводять до складу сучасних пробіотиків, біологічно-активних добавок і продуктів функціонального харчування [1]. Широкий спектр дії пробіотичних препаратів на макроорганізм зумовлює різноспрямоване вивчення біологічних властивостей лактобактерій та біфідобактерій [2, 3]. Одним з найбільш важливих видів біологічної активності молочнокислих бактерій є антагоністична дія щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, а їх антимікробний ефект пов'язують із синтезом значних концентрацій молочної та інших органічних кислот, продукуванням перекису водню, лізоциму, антибіотичних речовин, бактеріоцинів та ін. [4, 5].

Молочнокислі бактерії та біфідобактерії характеризуються рядом біологічних властивостей, що дозволяють використовувати їх в складі про-

біотичних препаратів для корекції мікрофлори, зокрема кишківника, за різних патологічних станів [6, 7, 8]. Необхідною ознакою молочнокислих бактерій та біфідобактерій є їх здатність до тимчасової колонізації епітелію слизових оболонок, що створює в екосистемі сприятливі умови для відновлення нормофлори та її активності [5].

Підтримка природного мікробіоценозу кишківника є однією із умов функціонування організму в цілому. З великим успіхом для даних цілей можуть бути використані пробіотики, які містять молочнокислі бактерії, що пригнічують ріст гнильної та патогенної мікрофлори. Ці препарати характеризуються підвищеною біологічною активністю, яка нормалізує мікроекологічний статус організму тварин, завдяки чому успішно конкурують з лікарськими препаратами. Об'єктивним стимулом до створення пробіотиків є ріст захворювань, що пов'язані з розладами нормальної мікрофлори, внаслідок нераціонального харчування, надмірного та неконтрольованого використання фармацевтичних препаратів, незадовільного стану довкілля, стресів тощо. [9]. Асортимент вітчизняних пробіотичних препаратів для тварин та птиці на ринку України доволі обмежений через відсутність ефективних штамів молочнокислих бактерій і відповідних технологій. Отже, дослідження в цьому напрямі є актуальними і своєчасними. Розробка пробіотика на основі лакто- та біфідобактерій для профілактики та лікування шлунково-кишкових захворювань тварин та птиці дасть змогу отримати сільськогосподарську продукцію високої якості та екологічно безпечну, а також зменшить рівень циркуляції умовно-патогенної мікрофлори, яка здатна викликати харчові токсикоінфекції у людини. Розробка пробіотика дозволить отримати конкурентноспроможний та високоефективний вітчизняний препарат, який буде ефективнішим, ніж закордонні аналоги та в разі дешевшим. Впровадження пробіотика в виробництво дозволить підвищити ефективність лікувально-профілактичних заходів в господарстві, знизити захворюваність тварин на шлунково-кишкові захворювання, що в кінцевому результаті суттєво підвищить рівень рентабельності галузі тваринництва та зросте об'єм і якість її продукції.

Метою даної роботи було вивчити антагоністичні і адгезивні властивості нових штамів лактобактерій і біфідобактерій та відібрати перспективні мікроорганізми для виготовлення пробіотика для тварин та птиці.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були культури мікроорганізмів: *Lactobacillus plantarum* 7, *L. delbrueckii* 8, *L. casei* var. *hamnosus* 9, *L. casei* var. *rhamnosus* 14, *L. plantarum* 19, *L. plantarum* 22, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, *Bifidobacterium bifidum* 1, *B. infantis* 14, *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 23, *B. longum* 23, *B. adolescentis* 17-316, *B. adolescentis* 3, які виділені, селекціоновані та зберігаються у Національному науковому центрі «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (ННЦ «ІЕКВМ») (м. Харків). Культивування лактобактерій і біфідобактерій проводили на середовищах MRS та Блаурока відповідно протягом 24–72 годин за температури 37 °C [2].

Антагоністичні властивості лактобацил та біфідобактерій вивчали відносно п'яти штамів умовно-патогенних мікроорганізмів: *Escherichia coli* K 99, *Staphylococcus epidermidis* M, *S. aureus* 209, *Salmonella dublin* 12, *Pseudomonas aeruginosa* 34/2, що знаходяться в колекції збудників інфек-

ційних хвороб тварин ННЦ «ІЕКВМ». Дослідження проводили з використанням методу відстроченого антагонізму [10]. Ступінь антагоністичної активності вважали високою – із зоною затримки росту 20,0-25,0 мм і більше, середньою – із зоною затримки росту 10,0-19,0 мм, низькою – із зоною затримки росту 0-9,0 мм.

Адгезивні властивості мікроорганізмів визначали за методикою В.І. Бриллис [11] з використанням еритроцитів барана. Добові культури бактерій центрифугували протягом 5 хв при 3000 об/хв. Одержану біомасу ресуспендували в буфері PBS. Одержували суспензію бактерій, яка містила 10^9 КУО/мл за стандартом мутності. Одержані суспензії бактеріальних та еритроцитарних клітин змішували у рівних об'ємах в мікропробірці та інкубували за температури 37°C протягом 30 хв. Після цього клітини двічі промивали центрифугуванням в буфері PBS при 200 об/хв протягом 5 хв. З осаду клітин готували мазки, фарбували за Грамом і підраховували кількість адгезованих до еритроцитів клітин бактерій. Для оцінки адгезивних властивостей мікроорганізмів використовували середній показник адгезії (СПА), який визначали за середньою кількістю мікроорганізмів, що прикріпилися до поверхні одного еритроцита. Враховували всі еритроцити, що знаходяться в п'яти полях зору, в сумі не менше 50. Із врахованих еритроцитів обчислювали відсоток клітин, що мають на поверхні адгезовані мікроорганізми (К, %). Зважаючи на значення СПА і коефіцієнта К, підраховували індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). Ступінь адгезивності досліджуваних бактерій оцінювали по показнику ІАМ. Так, мікроорганізми вважали неадгезивними при ІАМ < 1,75, низькоадгезивними – при ІАМ від 1,76 до 2,5, середньоадгезивними – від 2,51 до 4,0 та високоадгезивними – при ІАМ > 4,0.

Швидкість сквашування молока лакто- та біфідобактеріями оцінювали за методикою Банникової Л.О. [12].

Кислотоутворення в молоці визначали за кількістю кислоти, що утворюється у знежиреному молоці за описаною методикою [2].

Кількість живих мікробних клітин визначали методом серійних розведень одержаної суспензії в фізіологічному розчині [13].

Усі дослідження проводили у триразовій повторності. Статистичну обробку результатів проводили за традиційними методами варіаційної статистики з використанням програми Excel та Statistica 10. Відмінності між величинами вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати. Результати визначення антагоністичної активності лактобактерій та біфідобактерій подано у таблиці 1 та 2.

Штами *L. plantarum* 7, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317 проявляли високу антагоністичну активність щодо *S. aureus*, зони затримання росту коливалися у межах 20,0–25,0 мм; середньоактивними були штами *L. delbrueckii* 8, *L. plantarum* 19 та *L. plantarum* 22, при цьому зона затримання росту коливалася у межах 10,0–19,0 мм; низькоактивними виявилися штами *L. casei* var. *hamnosus* 9, *L. casei* var. *rhamnosus* 14 тому, що зона затримки росту була нижчою за 10,0 мм.

Щодо тест-культури *S. epidermidis* високу антагоністичну активність проявили лактобактерії *L. plantarum* 7, *L. plantarum* 22, *L. plantarum* 7-317, середньоактивними виявилися штами *L. delbrueckii* 8, *L. plantarum* 19,

L. casei 27, а низькою активністю володіли *L. casei* var. *hamnosus* 9 та *L. casei* var. *rhamnosus* 14.

Відносно *E. coli* найвищу антагоністичну активність визначено у *L. plantarum* 7, *L. plantarum* 22, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, середню – у *L. delbrueckii* 8, *L. plantarum* 19, а низьку – у *L. casei* var. *hamnosus* 9 та *L. casei* var. *rhamnosus* 14.

Високоактивними лактобактеріями щодо *S. dublin* визначено *L. plantarum* 22, середньоактивними – *L. plantarum* 7, *L. plantarum* 19, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, низькоактивними – *L. delbrueckii* 8, *L. casei* var. *hamnosus* 9 та *L. casei* var. *rhamnosus* 14.

Таким чином встановлено, що найбільшу антагоністичну активність проявляють культури лактобактерій *L. plantarum* 7, *L. plantarum* 22, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317.

Таблиця 1

Антагоністична активність досліджуваних культур лактобацил

Бактерії	Зона затримки росту тест-культур, мм				
	грампозитивні		грамнегативні		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. dublin</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>L. plantarum</i> 7	21,7±1,09	22,3±1,48	20,8±1,87	18,0±0,57	0
<i>L. delbrueckii</i> 8	12,3±1,44	11,7±0,34	10,1±0,87	7,5±0,77	0
<i>L. casei</i> var. <i>hamnosus</i> 9	8,3±0,69	7,5±0,54	9,0±0,78	9,1±0,47	0
<i>L. casei</i> var. <i>rhamnosus</i> 14	9,8±0,95	5,9±1,40	8,7±0,84	7,7±0,81	0
<i>L. plantarum</i> 19	12,6±0,54	11,1±0,33	10,9±1,01	10,9±0,77	0
<i>L. plantarum</i> 22	19,8±1,77	22,3±0,69	23,3±0,51	20,1±0,32	0
<i>L. casei</i> 27	24,7±1,87	16,7±0,57	20,1±0,97	17,3±1,21	0
<i>L. plantarum</i> 7-317	22,5±1,02	24,9±0,77	20,1±0,57	17,5±0,57	0

Таблиця 2

Антагоністична активність штамів біфідобактерій

Бактерії	Зона затримки росту тест-культур, мм				
	грампозитивні		грамнегативні		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. dublin</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>B. bifidum</i> 1	12,5±0,92	11,7±0,77	15,4±0,78	18,6±0,34	0
<i>B. infantis</i> 14	7,9±0,87	9,5±0,23	8,8±0,98	7,9±0,32	0
<i>B. adolescentis</i> 17	22,2±0,71	19,8±0,77	20,7±1,81	18,5±0,98	0
<i>B. adolescentis</i> 23	12,5±0,43	12,1±0,67	10,1±0,51	18,4±0,77	0
<i>B. longum</i> 23	14,7±1,00	17,1±0,34	18,2±0,44	10,5±1,01	0
<i>B. adolescentis</i> 17-316	20,1±0,32	22,4±0,71	24,7±1,23	21,3±0,57	0
<i>B. adolescentis</i> 3	20,5±0,27	22,4±0,65	21,5±0,76	20,4±0,77	0

Отже, в результаті проведеного дослідження антагоністичних властивостей біфідобактерій встановлено (табл. 2), що досліджувані культури проявляли різний ступінь пригнічуючої дії щодо штамів умовно-патогенних мікроорганізмів.

Так, штами *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 17-316 та *B. adolescentis* 3 проявляли високу антагоністичну активність до *S. aureus*, зони затримання росту коливались у межах 20,0–25,0 мм; середньоактивними були

штами *B. bifidum* 1, *B. adolescentis* 23, *B. longum* 23 – зони затримання росту коливалися в межах 10,0–19,0 мм; низькоактивним виявився штам *B. infantis* 14, при цьому зони затримання росту коливалися в межах до 10,0 мм.

До тест-культури *S. epidermidis* найбільшу активність визначено у *B. adolescentis* 17-316 та *B. adolescentis* 3 n, середню – у *B. bifidum* 1, *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 23, *B. longum* 23, низьку – штам *B. infantis* 14.

Високоактивними до культури *E. coli* визначено *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 17-316, *B. adolescentis* 3 n, середньоактивними – *B. bifidum* 1, *B. adolescentis* 23, *B. longum* 23, низькоактивною – *B. infantis* 14.

Щодо тест-культури *S. dublin* найвищу активність визначено у *B. adolescentis* 17-316, *B. adolescentis* 3, середню активність – *B. bifidum* 1, *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 23, *B. longum* 23, низьку активність – *B. infantis* 14.

Таким чином, з 7 штамів найвищу антагоністичну активність визначено у культур *B. adolescentis* 17-316 та *B. adolescentis* 3.

Слід відмітити, що всі штами не проявляли антагоністичну активність щодо культури *P. aeruginosa*.

Таблиця 3

Розподіл штамів лактобацил та біфідобактерій за ступенем антагоністичної активності щодо тест-культур умовно-патогенних мікроорганізмів

Тест-культура	Кількість штамів					
	високоактивні		середньоактивні		низькоактивні	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
<i>E. coli</i>	7	46,7	5	33,3	3	20,0
<i>S. aureus</i>	6	40,0	6	40,0	3	20,0
<i>S. epidermidis</i>	5	33,3	7	46,7	3	20,0
<i>S. dublin</i>	3	20,0	8	53,3	4	26,7
<i>P. aeruginosa</i>	0	–	0	–	0	–

В таблиці 3 наведені узагальнені дані щодо ступеня антагоністичної активності лактобацил та біфідобактерій. Результати проведених досліджень, що надані в таблиці 3, свідчать про те, що найбільший відсоток високоактивних штамів був до *E. coli* – 7 штамів (46,7 %) та до *S. aureus* – 6 штамів (40,0 %); найбільший відсоток середньоактивних штамів був до *S. dublin* – 8 штамів (53,3 %), *S. epidermidis* – 7 штамів (46,7 %) та *S. aureus* – 6 штамів (40,0 %).

Проведені дослідження встановили значні варіації в рівні антагоністичної активності різних штамів лактобацил та біфідобактерій і спектрі мікрофлори, що пригнічуються ними.

Проведенні експерименти показали, що досліджувані штами здатні адгезувати до еритроцитів барана (табл. 4). Штами *L. delbrueckii* 8, *L. casei* var. *hamnosus* 9, *L. casei* var. *rhamnosus* 14, *L. plantarum* 19, *B. adolescentis* 3 віднесені до низькоадгезивних. Середньоадгезивними визначено штами *B. bifidum* 1 та *B. infantis* 14, а високоадгезивними виявилися культури *L. plantarum* 7, *L. plantarum* 22, *L. plantarum* 7-317, *B. adolescentis* 17,

B. adolescentis 23 та *B. adolescentis* 17-316. Штами *L. casei* 27 та *B. longum* 23 виявилися неадгезивними. У *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 23, *B. adolescentis* 17-316 та *L. plantarum* 7 коефіцієнт адгезії виявився найбільшим і складав $64,2 \pm 7,30$; $61,5 \pm 3,27$; $60,1 \pm 5,97$ та $59,8 \pm 5,01$ відповідно.

Таблиця 4
Адгезивні властивості лактобактерій та біфідобактерій (M±m)

Штам	Індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ)	Коефіцієнт адгезії, %
<i>L. plantarum</i> 7	6,7±1,6	59,8±5,01
<i>L. delbrueckii</i> 8	1,8±0,5	47,9±4,08
<i>L. casei</i> var. <i>hamnosus</i> 9	2,1±0,6	38,4±3,21
<i>L. casei</i> var. <i>rhamnosus</i> 14	2,3±0,2	39,5±2,12
<i>L. plantarum</i> 19	2,5±0,5	41,5±3,27
<i>L. plantarum</i> 22	4,9±2,0	51,4±7,19
<i>L. casei</i> 27	1,7±0,7	40,7±2,01
<i>L. plantarum</i> 7-317	5,7±1,9	57,8±5,23
<i>B. bifidum</i> 1	3,0±0,4	44,7±2,17
<i>B. infantis</i> 14	3,1±0,2	45,8±1,15
<i>B. adolescentis</i> 17	7,3±1,3	64,2±7,30
<i>B. adolescentis</i> 23	5,8±2,5	61,5±3,27
<i>B. longum</i> 23	1,7±0,8	48,8±6,70
<i>B. adolescentis</i> 17-316	5,8±1,7	60,1±5,97
<i>B. adolescentis</i> 3	2,1±0,2	36,2±1,17

Нами спочатку було досліджено здатність бактерій до кислотоутворення, а потім визначено швидкість сквашування молока для кожного штаму.

Таблиця 5
Характеристика біологічних властивостей молочнокислих бактерій

Досліджуваний штам	Кислотоутворення, в градусах Тернера, M±m	Швидкість сквашування молока, год
<i>L. plantarum</i> 7	140°±4,9	12
<i>L. delbrueckii</i> 8	71°±6,7	48
<i>L. casei</i> var. <i>hamnosus</i> 9	80°±6,9	48
<i>L. casei</i> var. <i>rhamnosus</i> 14	60°±5,8	56
<i>L. plantarum</i> 19	62°±5,9	56
<i>L. plantarum</i> 22	110°±4,7	48
<i>L. casei</i> 27	160°±6,7	48
<i>L. plantarum</i> 7-317	140°±4,5	24
<i>B. bifidum</i> 1	64°±4,3	56
<i>B. infantis</i> 14	72°±4,8	48
<i>B. adolescentis</i> 17	114°±6,3	24
<i>B. adolescentis</i> 23	110°±6,1	24
<i>B. longum</i> 23	88°±5,1	56
<i>B. adolescentis</i> 17-316	140°±5,7	24
<i>B. adolescentis</i> 3	100°±4,9	24

Ступінь кислотоутворення у досліджуваних культур була різною (табл. 5). Так, штами лактобактерій сквашували молоко за 12–56 годин, титрована кислотність складала від $60^\circ \pm 5,8$ Т до $160^\circ \pm 6,7$ Т. У культур

біфідобактерій кислотоутворення спостерігали від $64^{\circ}\pm 4,3$ до $140^{\circ}\pm 5,7$ T і швидкість сквашування молока – від 24 до 56 годин.

Із таблиці 5 видно, що досліджені штами мали високу швидкість сквашування молока та спроможність до кислотоутворення. Аналогічні результати були одержані іншими дослідниками, вони показали, що молочнокислі бактерії сквашують знежирене молоко протягом 24-72 годин та мають кислотність від $32^{\circ}\pm 1,7$ T до $157^{\circ}\pm 5,8$ T [5].

Обговорення. Антагоністичні властивості молочнокислих бактерій щодо збудників захворювань людини і тварин добре відомі і, насамперед, вони зумовлені продукцією біологічно активних метаболітів, зокрема молочної кислоти [2]. Внаслідок проведення досліджень з визначення антагоністичних властивостей лактобацил та біфідобактерій було встановлено, що досліджувані культури проявляли різний ступінь пригнічуючої дії щодо умовно-патогенних мікроорганізмів.

Наша точка зору збігається із даними інших дослідників, які вказують, що тільки деякі з досліджених штамів лакто- і біфідобактерій проявляли здатність пригнічувати розмноження умовно-патогенної мікрофлори [14].

Важливим аспектом відбору пробіотичних штамів є їхня здатність швидко колонізувати кишечник [14, 15]. Передумовою такої колонізації є адгезивні властивості молочнокислих бактерій, завдяки яким штами прикріплюються до поверхні епітелію, що запобігає їх елімінації під дією кишкової перистальтики та забезпечує домінування в даній екосистемі [1].

Наші дані та аналіз літератури свідчать про те, що одним із найперспективніших напрямів сучасної мікробіології є вивчення адгезивної здатності мікроорганізмів. Бактеріальне прилипання, як відомо, відіграє важливу роль у персистенції бактерій у багатьох екосистемах. Воно необхідне для колонізації нормальною мікрофлорою організму господаря і водночас вважається першим кроком у патогенезі бактеріальних інфекцій, оскільки є проявом патогенності мікроорганізмів.

Отже, здатність досліджуваних штамів активно адгезувати до еритроцитів баранів, на нашу думку, можна пояснити тим, що ці мікроорганізми є природними симбіонтами організму, що підтверджено даними літератури [14].

Відомо, що основною характерною властивістю молочнокислих бактерій, за якою їх виділяють в окрему групу мікроорганізмів, є здатність утворювати молочну кислоту як основний продукт бродіння [2,12]. Тому не менш важливим питанням є вивчення активності кислотоутворення пробіотичних культур. Літературні дані вказують, що бактерії, які входять до складу сучасних пробіотиків, мають високий ступінь кислотоутворення [12].

Таким чином, проведено дослідження антагоністичних і адгезивних властивостей у 15 штамів лактобацил і біфідобактерій. В результаті послідовного відбору за антагоністичними і адгезивними властивостями відібрано штами *L. plantarum* 7, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, *B. adolescentis* 17 та *B. adolescentis* 17-316, які є перспективними для розробки на їх основі вітчизняного пробіотика для тварин та птиці.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ И АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ ЛАКТОБАКТЕРИЙ И БИФИДОБАКТЕРИЙ

С.А. Гужвинская, А.П. Палий

ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»,
ул. Пушкинская, 83, Харьков, 61023, Украина

Резюме

Цель. Изучить антагонистические и адгезивные свойства новых штаммов лактобактерий и бифидобактерий и отобрать перспективные микроорганизмы для изготовления пробиотика для животных и птиц. **Методы.** Объектом исследований были 8 штаммов микроорганизмов лактобактерий и 7 штаммов микроорганизмов бифидобактерий, которые сохраняются в Национальном научном центре «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины». Антагонистическую активность лактобактерий и бифидобактерий определяли методом отсроченного антагонизма. Адгезивные свойства микроорганизмов определяли *in vitro* с использованием эритроцитов барана. Активность кислотообразования исследовали на обезжиренном молоке через 14 часов. **Результаты.** Из 15 исследуемых культур были отобраны штаммы *L. plantarum* 7, *L. plantarum* 22, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, *B. adolescentis* 17-316 и *B. adolescentis* 3, которые обладали наиболее высокой антагонистической активностью по отношению к условно-патогенным микроорганизмам: *Escherichia coli* K 99, *Staphylococcus epidermidis* M, *S. aureus* 209, *Salmonella dublin* 12, *Pseudomonas aeruginosa* 34/2. Индексы адгезивности исследуемых культур были от $1,8 \pm 0,5$ до $6,7 \pm 1,6$. Активность кислотообразования в молоке была от 60° до 160° Т у лактобактерий и от 64 до 140 Т – у штаммов бифидобактерий. **Выводы.** В результате последовательного отбора по антагонистическим и адгезивным свойствам получены штаммы *L. plantarum* 7, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, *B. adolescentis* 17 и *B. adolescentis* 17-316, которые являются перспективными для разработки на их основе отечественного пробиотика для животных и птицы.

Ключевые слова: антагонистическая активность, адгезивные свойства, лактобактерии, бифидобактерии, пробиотики.

DETERMINATION OF ANTAGONISTIC AND ADHESIVE PROPERTIES OF LACTOBACTERIUM AND BIFIDOBACTERIUM

S.O. Gujvinska, A.P. Paliy

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine",
83 Pushkinskaya Str., Kharkiv, 61023, Ukraine

Summary

Aim. To study antagonistic and adhesive properties of new strains lactobacterium and bifidobacterium and select promising microorganisms for the production of probiotic for animals and birds. **Methods.** The objects of study were 8 strains of microorganisms of 1 lactobacterium and 7 strains of microorganisms of bifidobacterium which are stored in National Scientific Center «Institute of experimental and clinical veterinary medicine». Antagonistic activity of lactobacilli and bifidobacteria was determined by the method of delayed antagonism. The activity of acid formation was investigated in skimmed milk after 72 hours of cultivation. **Results.** Of the 15 strains examined, strains *Lactobacillus plantarum* 7, *L. plantarum* 22, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, *Bifidobacte-*

rium adolescentis 17-316 and *B. adolescentis 3*, which exhibited the highest antagonistic activity in relation to opportunistic microorganisms: *Escherichia coli K 99*, *Staphylococcus epidermidis M*, *S. aureus 209*, *Salmonella dublin 12*, *Pseudomonas aeruginosa 34/2*. Adhesive properties of microorganisms were determined in vitro using sheep erythrocytes. Adhesive properties of microorganisms were determined in vitro using sheep erythrocytes. **Conclusions.** As a result of sequential selection, the strains *L. plantarum 7*, *L. casei 27*, *L. plantarum 7-317*, *B. adolescentis 17* and *B. adolescentis 17-316*, strains were selected according to the antagonistic and adhesive properties, which are promising for the development on their basis of the domestic probiotic for animals and poultry.

Keywords: antagonistic activity, adhesive properties, lactobacterium, bifidobacterium, probiotics.

1. Kovalenko NK, Livinska OP, Poltavska OA, Garmasheva IL, Shinkarenko LM, Oleshchenko LT. [Probiotic Properties of Industrial Strains of Lactobacilli and Bifidobacteria]. Mikrobiol. Z. 2010; 72(1):10-17. Ukrainian.
2. Kvasnikov EP, Nesterenko OA. [Lactic Acid Bacteria and Ways of Their Use]. Moscow: Nauka; 1975. Russian.
3. Poltavska OA, Kovalenko NK. [Antagonistic properties of bifidobacteria isolated from different natural sources]. Mikrobiol. Z. 2005;67(6):32-39. Ukrainian.
4. Potemskaya OI. [Antagonistic activity as a criterion for the selection of bifidobacteria and lactic cultures]. Food and processing industry. 2000; 1:17-19. Russian.
5. Jankowski DS. [Microbial ecology of the person: modern possibilities of its maintenance and restoration]. Expert LTD. 2005. Ukrainian.
6. Jamalifar H, Rahimi H, Samadi N, Shahverdi A, Sharifian Z, Hosseini F, Eslahi H, Fazeli M. Antimicrobial activity of different Lactobacillus species against multi-drug resistant clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Iran. J. Microbiol. 2011; 3(1):21-25.
7. Saranya S, Hemashenpagam N. Antagonistic activity and antibiotic sensitivity of Lactic acid bacteria from fermented dairy products. Adv. Appl. Sci. Res. 2011; 2(4):528-534.
8. Woodmansey EJ. Intestinal bacteria and ageing. J. Applied Microbiology. 2007; 102:1178-1186.
9. Stegnyy BT, Guzhvinskaya SA. [Application of probiotics in animal husbandry Veterinary] Medicine of Ukraine. 2005;5:39 - 41. Ukrainian.
10. Yegorov NS. [Fundamentals of the doctrine of antibiotics] Moscow: Vysshaya shkola; 1986. Russian.
11. Brilis VK, Brilene TA, Lentsner AA. [Method for studying the adhesive process of microorganisms]. Laboratory work. 1996;4:210-212. Russian.
12. Bannikova L.O. [Selection of lactic acid bacteria and their use in the dairy industry]. Moscow: Food industry, 1975. Russian.
13. Labinskaya AS. [Microbiology with the technique of microbiological research] Moscow: Medicine; 1978. Russian.
14. Garmasheva IL, Kovalenko NK. [Adhesive properties of lactic acid bacteria and methods for their study]. Mikrobiol. Z. 2005;67(4):68-84. Ukrainian.
15. Lyaskovskiy TM, Pidgorskiy VS, Kovalenko NK, Garmasheva IL, Muchnik FV. [Identification of probiotic strains of lactic acid bacteria] Mikrobiol. Z. 2008; 70(6): 3-10. Ukrainian.

Отримана 6.04.2017