

УДК 619:616.98.99:636.22/28

Калашніков В.О., к. вет. н., **Шаповалов С.О.,** к.б.н.,
Вержак В.В., пошукач ©

Інститут тваринництва НААНУ, м. Харків

ВИВЧЕННЯ АНТАГОНІСТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПЛЕКСНОГО ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ «ПРАЙМІКС-БІОНОРМ-К».

*У статті наведено результати вивчення антагоністичних властивостей бактерій *Lactobacillus acidophilus* та *Bifidobacterium bifidum*, які є бактеріальною основою комплексного пробіотичного препарату «ПРАЙМІКС-БІОНОРМ-К», до бактерій виділених із вмісту кишечника свиней. Встановлено, що антагоністичні властивості штамів-антоганістів перевищують бактеріостатичні властивості деяких антибіотиків.*

Ключові слова: пробіотичні мікроорганізми, антибіотики, свині.

Вступ. Виробництво продуктів тваринництва значною мірою пов'язане зі збільшенням поголів'я, що призводить до змінення мікробного середовища виробничих територій. Складаються умови для швидкого розповсюдження інфекційних хвороб різної етіології, значне місце серед яких займають захворювання шлунково-кишкового тракту. Відомо, що умовно-патогенна мікрофлора, яка є нормофлорою травного каналу під дією різних стресових факторів може набувати патогенних властивостей. Антибіотикотерапія, яка використовується для профілактики й лікування інфекційних захворювань, може призвести до порушення мікроекології кишечника або сприяти посиленню ступеня вже існуючих ускладнень. Це також призводить до появи штамів, які відрізняються стійкістю до антибактеріальних препаратів і можуть викликати важкі захворювання, що не піддаються усуненню антибіотиками [1, 2, 3]. Надмірне застосування будь-якого антибіотика у будь-якому випадку викликає збільшення кількості стійких бактерій [4, 5]. В умовах інтенсивного свинарства не можна відмовитись від вакцинації, дезінфекції, використання антибактеріальних та антигельмінтних препаратів, при відповідних рекомендаціях, але відновити нормальну мікрофлору після їх використання необхідно. Науковцями доведено про позитивний вплив пробіотиків [6, 7], пребіотиків [8, 9], та симбіотиків [10] на відновлення складу мікрофлори та запобігання її порушень у тварин різних видів [11, 12, 13]. Одним з таких пробіотиків є препарат «ПРАЙМІКС-БІОНОРМ-К».

Метою нашої роботи було вивчення характеру антагоністичних взаємовідносин бактерій, які увійшли до складу комплексного пробіотичного препарату «ПРАЙМІКС-БІОНОРМ-К» із бактеріями кишечника свиней, які є потенційними збудниками кишкових інфекцій.

Матеріали і методи. Основою комплексного пробіотика «ПРАЙМІКС-БИОНОРМ-К» є живі ліофілізовані бактерії видів *Lactobacillus acidophilus* та *Bifidobacterium bifidum* в концентрації 1×10^6 в 1 г препарату. Тест-культурами були штами бактерій *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, які були виділені з калових мас свиней.

Антагоністичні властивості бактерій вивчали методом перпендикулярних штрихів на агарі Ейкмана (10 см^3 МПА + 3 см^3 знежиреного молока) [14], а також на МПА з додаванням глюкози 2 % від об'єму. Для чого культуру передбачуваного штаму-антагоніста засівали на відповідне живильне середовище, щілину між краями кришки та дном чашки заливали розплавленим парафіном. Культури вирощували у термостаті при $t=37^\circ \text{C}$, у продовж 48 год. Тест-культури підсівали до вирослого на поверхні агаризованого середовища досліджуваному штаму-антагоністу. Підсів призводили петлею з суспензії клітин, із концентрацією 10^9 клітин в 1 см^3 .

Чутливість до антибіотиків визначали методом дифузії в агарі (МПА з додаванням 2 % глюкози [15]) із застосуванням стандартних паперових дисків.

Результати досліджень. Було вивчено характер взаємовідносин штамів з культурою антагоністом. Як видно із таблиці 1. штами-антагоністи *Lactobacillus acidophilus* та *Bifidobacterium bifidum* проявляли антагоністичну дію до усіх тест-культур використаних нами у дослідженнях.

Таблиця 1.

Антагоністична дія *Lactobacillus acidophilus* та *Bifidobacterium bifidum*

№ з/п	Вид мікроорганізму	Зона затримки росту, мм	
		агар Ейкмана	МПА + 2 % глюкози
1	<i>Escherichia coli</i>	20	15
2	<i>Enterococcus faecalis</i>	15	10
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	9	5
4	<i>Proteus vulgaris</i>	12	10
5	<i>Bacillus subtilis</i>	20	13

Примітка: > – 22 мм – чутливі;
15 – 22 мм – середньо чутливі;
< 15 мм – стійки

Зона затримки росту на агарі Ейкмана в порівнянні із зоною затримки на МПА+2 % глюкози була більшою для *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis* на 5 мм, для *Staphylococcus aureus* на 4 мм, для *Proteus vulgaris* на 3 мм та *Bacillus subtilis* на 7 мм. На агарі Ейкмана ми спостерігали більш значний прояв антагоністичних властивостей у порівнянні з ростом на МПА із додаванням 2 % глюкози. Цей факт можна пояснити значно більшою концентрацією живильних речовин у агарі Ейкмана та, як наслідок, сильнішою активацією антагоністичних властивостей молочнокислих бактерій.

Була вивчена чутливість виділених штамів мікроорганізмів та бактеріальної основи комплексного пробіотика «ПРАЙМІКС-БИОНОРМ-К» – *Lactobacillus acidophilus* та *Bifidobacterium bifidum* до антибіотиків (табл. 2).

Таблиця 2.

Чутливість культур мікроорганізмів до антибіотиків

№ з/п	Назви антибіотиків	Зона затримки росту, мм					
		<i>B. bifidum</i> та <i>L. acidophilus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>B. subtilis</i>
1	Гентаміцин	25	20	19	10	16	22
2	Неоміцин	17	12	10	22	13	12
3	Стрептоміцин	15	13	13	10	10	19
4	Канаміцин	16	14	15	12	11	21
5	Тетрациклін	17	19	14	0	18	20
6	Доксициклін	19	18	14	4	17	19
7	Оксацилін	16	10	19	25	12	11
8	Цефазолін	22	22	23	26	25	21
9	Поліміксин	20	21	21	17	21	18
10	Левоміцетин	16	18	19	13	18	18

Примітка: > – 22 мм – чутливі;

15 – 22 мм – середньо чутливі;

< 15 мм – стійки

З даних наведених у таблиці 2. видно, що штами *B. bifidum* та *L. acidophilus*, які входили до пробіотичного препарату, були чутливими до гентаміцину, цефазоліну, поліміксину, а також мали середню чутливість до решти використовуваних антибіотиків. Культури *E. coli* мали чутливість до гентаміцину, цефазоліну, поліміксину, тетрацикліну, доксицикліну, левоміцетину. Культури *E. faecalis* були чутливими до гентаміцину, цефазоліну, поліміксину, левоміцетину. Культури *S. aureus* були чутливими до неоміцину, оксациліну, цефазоліну. Культури *P. vulgaris* були чутливими до цефазоліну, поліміксину. Культури *B. subtilis* були чутливими до гентаміцину, стрептоміцину, канаміцину, тетрацикліну, доксицикліну, цефазоліну, поліміксину, левоміцетину.

Порівнюючи зони затримки росту тест-культур до антибіотиків (табл. 2) та антагоністичні властивості *B. bifidum* та *L. acidophilus* до тест-культур (табл. 1) можна зазначити, що для культур *E. coli*, штами-антагоністи володіли більш вираженими антагоністичними властивостями аніж неоміцин, стрептоміцин та канаміцин. Для культур *E. faecalis* такими ж як і неоміцин. Антагоністичні властивості змішаної культури *B. bifidum* та *L. acidophilus* на *S. aureus* були вище за тетрациклін та доксициклін. Для *P. vulgaris* такими ж як і стрептоміцин. Для *B. subtilis* антагоністичні властивості *B. bifidum* та *L. acidophilus* були більше за неоміцин та оксацилін.

Отже, з проведених досліджень можна зробити висновок, що альтернативою застосування антибіотиків у профілактиці та боротьбі з бактеріальною мікрофлорою може бути використання пробіотичних препаратів.

Висновки.

1. Мікроорганізми-пробіотики мають вираженішу антагоністичну властивість у відношенні до умовно-патогеної мікрофлори аніж досліджувані антибіотики.

2. Альтернативою застосування антибіотиків у профілактиці та боротьбі з патогенною бактеріальною мікрофлорою може бути використання пробіотичних препаратів.

Вважаємо, що подальші дослідження у цьому напрямку зменшать антибіотиконавантаження на організм свиней на дорощуванні, що позитивно вплине на якість тваринницької продукції

Література

1. O'Brien, T.F., et al, "Resistance of bacteria to antibacterial agents: report of Task Force 2" *Reviews of Infectious Diseases*, Vol 9 (Suppl. 3), May-Jun 1987, ppS244-60.
2. Jacoby, G.A. and Archer, G.L., "New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents", *New England Journal of Medicine*, Vol 324, No 9, 28 Feb 1991, pp601-12; Halliday, J., *Antibiotics: The Comprehensive Guide*, London, Bloomsbury, 1990, p xviii; de Groot, op cit, pp24-7.
3. Jacoby and Archer, op cit, pp601-12; Halliday, op cit, p xviii; Henry, J. (ed.), *The British Medical Association Guide to Medicines & Drugs*, London, Dorling Kindersley, (2nd edn) 1991, p124.
4. O'Sullivan, N. and Wise, R., "Macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics", *Current Opinion in Infectious Diseases*, Vol 3, 1990, pp743-50; de Groot, R., op cit, p20.
5. Reed, B.D., Huck, W. and Zazove, P., "Treatment of beta-hemolytic streptococcal pharyngitis with cefaclor or penicillin: efficacy and interaction with beta-lactamase-producing organisms in the pharynx", *Journal of Family Practice*, Vol 32, No 2, 1991, pp138-44.
6. Кузин А. И., Борисова Г. В., Губанов Д. В. Пробиотик спорметрин для профилактики и лечения при эндометрите коров // *Ветеринарна медицина*. – 2002. – № 11. – С. 28-29.
7. Янович В. Г. Симбіоз жуйних із мікроорганізмами передшлунків // *Вісник аграрної науки*. – 2002. - № 7. – С. 41-44.
8. Использование биомассы дрожжей для коррекции микробиоценоза кишечника животных / М. В. Каминская, Г. В. Колисник, Г. И. Нечай (та ін) // *Тезиси докладов Международной научно-практической конференции («Проблемы интенсификации производства продуктов животноводства»)*, (Республика Беларусь, г. Жолдино, 9-10 октября 2008 г.). -2008.-С. 280-281.
9. The effect of hull-less barley dietary on the activity of gut microflora and morphology small intestinal of layer hens/A. Yaghobfar, Rezaian, M. Ashrafi Helan [et al.] // *Pak. J. Biol. Sci.* - 2006. - 9 (4). - R 659-666.
10. Effect of anaerobic cecal microflora and dietary lactose on Salmonella Colonization in bob-white quail (*Colinus virginianus*) / D. E. Corner, J. D. Snoilss, A. J. Hinton [et al.] // *Poult. Sci.* - 1992. -V 71 (12). - P. 2022-2026.
11. The effect of dietary inclusion of probiotic prolexin on egg yield parameters of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) / T. Ayasan, B. D. Ozcan, M. Hnylnn [et al.] // *Int. J. Poult. Sci.* -- 2006. - N 5 (8). - P.776-779.
12. Ahmad I. Effect of probiotics on broilers performance/1. Ahmad//*J. Poult. Sci.* 2006. -5 (6). - P. 593-597.
13. Герасименко В. В. Морфокинетическое действие микрофлоры желудочно-кишечного тракта на организм гусей / В.В. Герасименко // *Вісник ОГУ*

2005. №2.-С. 133-137. Апатенко В. М. Полипаразитизм и паразитоценозы как модели одного биологического явления //Вет. медицина: Між від. темат. наук. зб. – Х., 2003. – Вип. 82. – С. 38-42.

14. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии / Т.С. Костенко, Е.И. Скаршевская, С.С. Гительсон. – М.: Агропромиздат, 1989. – 272 с.

15. Королюк А.М. Медицинская микробиология / В.Б. Сбойчаков. – СПб: ЭЛБИ-СПб, 2002. – 266 с.

Summary

Kalashnikov V. O., Shapovalov S.O., Verzhak V.V.

THE STUDY ANTAGONISTIC CHARACTERISTIC COMPLEX PROBIOTIC PREPARATION "PRIMIX-BIONORM-K"

*In article presentation to results of the study antagonistic characteristic bacteria *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* which are a bacterial base complex probiotic preparation "PRIMIX-BIONORM-K" to some bacteria chosen from bowelspig. It is installed that antagonistic characteristic bacteria-antagonistic exceed the repressing growing a characteristic some antibiotics.*

Рецензент – д.вет.н., проф. Гуфрій Д.Ф.