

УДК 619:616.98:578

Козловська Г.В., к.вет.н., доцент, Даниленко С.Г., к.т.н.,  
Скибіцький В.Г., д.вет.н. професор<sup>©</sup>

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ

## АНТАГОНІСТИЧНІ ТА АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ БІФІДОБАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ТЕЛЯТ

Виділено від телят біфідобактерії та селекціоновано штами за антагоністичною і адгезивною активністю.

**Ключові слова:** біфідобактерії, телята, адгезивність, антагонізм.

Біфідобактерії - облигатні представники мікробіоценозу шлунково-кишкового біотопу людини і тварин. Зменшення їх кількості свідчить про дисбаланс якісного складу індигенної мікрофлори, що, зазвичай, маніфестується ознаками дисбактеріозу. Регуляція вмісту біфідобактерій в організмі - важливий елемент підтримання належного фізіологічного статусу людини і тварин. Широко розповсюджені дисбактеріози у тварин обумовлюють пошук ефективних засобів корегування, зокрема розробки препаратів на основі індигенної мікрофлори шлунково-кишкового тракту.

Метою нашої роботи було виділення від телят біфідобактерій та селекція їх штамів за антагоністичною і адгезивною активністю.

### Матеріал і методи.

Від клінічно здорових телят 1-2-місячного віку відбирали проби калу з прямої кишки та в термосі з льодом доставляли їх в лабораторію. Матеріали досліджували, дотримуючись принципів положень ISO 7889 «Визначення морфологічних, культуральних та біохімічних характеристик мікроорганізмів роду *Bifidum*». Посіви здійснювали на рідкі та агаризовані (щільні, напівщільні) живильні середовища - МРС і ГМ. Інкубували їх в анаеробних умовах за температури  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  упродовж 72 годин.

Ідентифікацію біфідобактерій здійснювали шляхом вивчення культуральних, морфологічних, тинкторіальних та ферментативних властивостей, а селекціонованих за найбільш виразним антагонізмом та адгезивними властивостями, ще й молекулярно-генетичним методом (риботипування за 16S рибосомною ДНК).

Антагоністичні властивості ізольованих штамів біфідобактерій визначали *in vitro*, скориставшись методикою «відстроченого антагонізму» (Егоров Н.С., 1986.). У якості тест-культур були використані референтні штами мікроорганізмів (*P.vulgaris* ГІСК 160209, *E.coli* 0-55 ГІСК 240111, *S.aureus* ГІСК 049065, *P.auroginosa* АТСС 27853, *L.monocytogenes* NCTC 5105).

Адгезивну активність виділених бактерій оцінювали за методикою Бриліс В.І. та ін. (1986), використовуючи еритроцити крові телят. Визначали середній

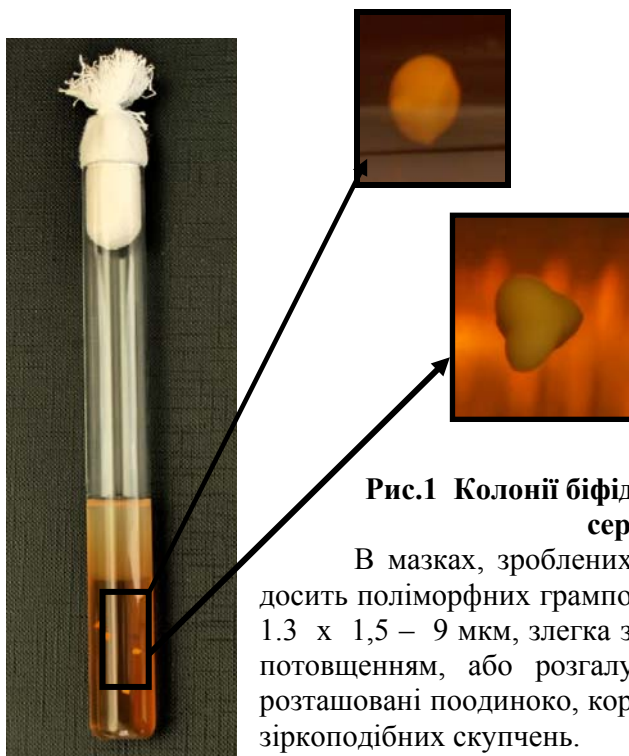
<sup>©</sup> Козловська Г.В., Даниленко С.Г., Скибіцький В.Г., 2011

показник адгезії (СПА) – кількість мікроорганізмів, що прикріплялись до 1 еритроциту. Адгезивність вважали нульовою за СПА від 0 до 1,0, низькою – за СПА від 1,01 до 2,0, середньою за СПА 2,01 до 4,0, або ж високою - за СПА понад 4,0.

Ферментативні властивості вивчали, використовуючи АРІ-системи фірми Biomerieux.

#### **Результати досліджень.**

В результаті досліджень ректальних проб, отриманих від телят, були виділені штами *Bifidum bifidum*, *Bifidum longum*, *Bifidum infantis*, *Bifidum adolescentis*, *Bifidum minimum* та *B animalis*. За культуральними властивостями вони практично не відрізнялись поміж собою - у напіврідкому середовищі росли, формуючи колонії у вигляді «цвяхів», «втягнутих веретен», або ж «смуг» (розташованих вздовж пробірки), а на поверхні агару формували колонії у вигляді «дисків» та «гречаних зерен».



**Рис.1 Колонії біфідобактерій у товщі живильного середовища**

В мазках, зроблених з культур, бактерії мали вигляд досить поліморфних грампозитивних паличок, розміром 0,5 – 1,3 x 1,5 – 9 мкм, злегка зігнутих, інколи з булавоподібним потовщенням, або розгалужених. Мікробні клітини були розташовані поодинокі, короткими ланцюжками чи у вигляді зіркоподібних скупчень.



**Рис. 1. Bifidum bifidum**  
(світловий мікроскоп, збільшення 100 ×10)

Антагоністичні властивості ізолюваних біфідобактерій представлені у таблиці 1.

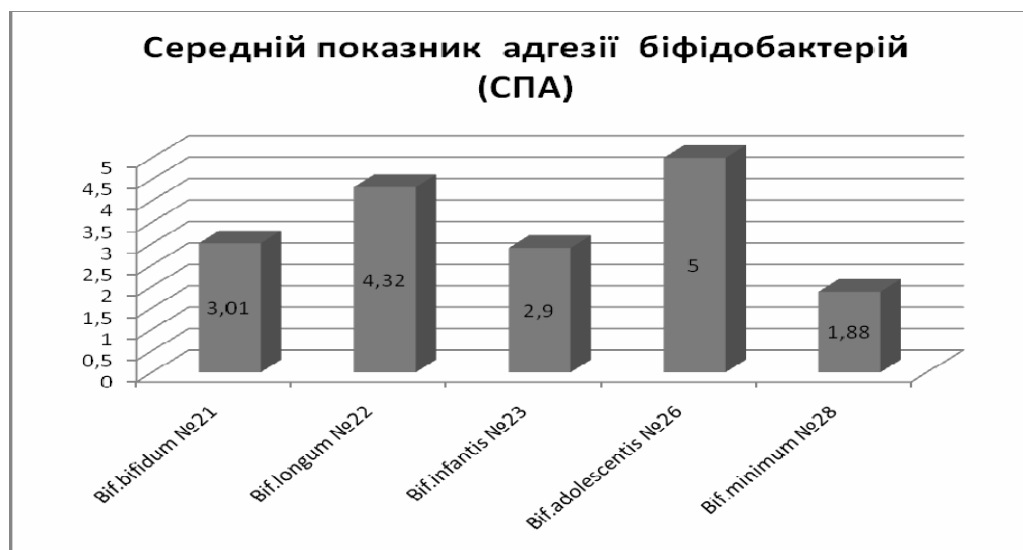
Таблиця 1

**Антагоністичні властивості біфідобактерій, виділених від телят**

№ п/п	Видова назва,штам	Тест-культури				
		P.vulgaris ГІСК 160209	E.coli O-55 ГІСК 240111	S.aureus ГІСК 049065	P.aerugi nosa ATCC 27853	L.monocy togenes NCTC 5105
		Зона пригнічення росту, мм				
1	Bif.bifidum №21	12	13	12	0	0
2	Bif.longum №22	16	10	14	0	0
3	Bif.infantis №23	0	12	0	0	0
4	Bif.adolescentis №26	18	12	18	0	0
5	Bif.minimum №28	10	12	10	0	0

Як видно з представлених у таблиці даних, всі досліджені штами виявили помітний антагонізм по відношенню до окремих тест-мікроорганізмів. Найбільш активним виявився штам №26 Bif.adolescentis, який пригнічував ріст P.vulgaris, S. aureus, E.coli. Ні один із досліджених штамів біфідобактерій не проявив антагонізму до всіх тест-культур.

На діаграмі 1 представлено результати визначення адгезивної активності ізолюваних від телят штамів біфідобактерій.



Як видно з діаграми 1, найвищий показник СПА був у штаму №26 *Bif. adolescentis* і становив 5.0.

#### **Заключення.**

Роль нормальної (фізіологічної) мікрофлори людини і тварин надзвичайно важлива. Вона виконує ряд функцій, зокрема: захисну (виявляє антагонізм по відношенню до патогенів, нейтралізує токсини і алергени, стимулює морфогенез імунної системи); ферментативну та вітамінсинтезуючу (виробляє ферменти, зокрема лактазу, синтезує вітаміни В1, В2, В5, В6, В12, К, РР та ін.) , а також сприяє нормальній моториці шлунково-кишкового тракту [1 - 11].

Важливою складовою нормальної мікрофлори кишкового біотопу вважаються біфідобактерії. Доведено ведучу їх роль в реалізації вищезгаданих функцій нормофлори [6].

В умовах широкого застосування різноманітних антибактерійних препаратів, зокрема антибіотиків, нерідко виникають порушення у співвідношенні мікроорганізмів нормальної мікрофлори, що прийнято називати дисбактеріозом. До останнього призводять також багато інфекційних (інвазійних) захворювань, токсикози, нехтування ветеринарно-санітарними правилами тощо. Нормалізація мікробіоценозу, як правило, досить тривала. Прискорити її можна шляхом застосування пробіотиків. Нині їх запропоновано кілька десятків. Особливо активними виявились пробіотики , що включають не 1 – 2, а понад 10 штамів мікроорганізмів – мультипробіотики. У ветеринарній медицині останні практично не використовуються. Здійснюючи розробку мультипробіотика на основі індигенної мікрофлори, ми виділили від телят штами біфідобактерій та охарактеризували їх властивості.

Селекціоновані за антагоністичною та адгезивною активністю штами біфідобактерій відібрані для подальших досліджень на предмет визначення доцільності включення їх до складу пробіотику – засобу нормалізації шлунково-кишкового мікробіоценозу у телят.

### Література

1. Акименко Л. Пробиотики у ветеринарній медицині / Л. Акименко // Ветеринарна медицина України. - 2005. - № 5 - С. 37-38.
2. Бриллис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело-1986, №4 - С.210-212.
3. Далин М.Ф., Фиш Н.Г. Адгезины микроорганизмов // Итоги науки и техники / ВИНТИ. Сер. Микробиология. - 1985. - 16. - 106 с.12.
4. Долгов В.С. Использование пробиотиков в животноводстве / В.С. Долгов // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2007. - № 5. - С.48-50.
5. Козловська Г.В. Селекція штамів лактобактерій, виділених від телят / Матеріали конференції науково-педагогічних працівників, наукових співробітників та аспірантів НУБіПУ. - К. 2010. - С. 209.
6. Литвин В.П. Ефективні біологічні препарати при дисбактеріозі та ешерихозі у тварин і птиці / В.П. Литвин, В.В. Поліщук, М.В. Ляпунов // Науковий вісник Національного аграрного університету. - 2000. - Вип. - С 129 - 133.
7. Ляковский Т.М., Подгорский В.С. Оценка пробиотиков, согласно рекомендациям международных организаций( FAO/WHO) / Микробиологичний журнал. - 2005, Т.67.- №6.- С.104-112.
8. Нормальная микрофлора животных и ее коррекция пробиотиками / Сидоров М.А., Субботин В.В., Данилевская Н.В. // Ветеринария. - 2000. - № II. - С. 17-22.
9. Полтавська О.А., Н.К. Коваленко. Таксономічне положення біфідобактерій і сучасні методи їх ідентифікації // Микробиологичний журнал-2009, Т.71, №3-С. 62-72.
10. Arturo Anadon, Maria Rosa Martines-Larrana, Maria Aranzazu Martinez. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment // Regulatory toxicology and pharmacology/-2006-45-91-95.
11. V. Delcenserie, N. Bechoux, B.China. A PCR method for detection of bifidobacteria in raw milk, cheese comparison with culture-based methods // Journal of microbiological methods-2005,v.61- P.55-67.

### Summary

*Bifidobacteria isolated from calves and selektions strains with antagonistic activity and adhesive.*

Рецензент - д.с.-г.н., проф. Колтун Є.М.