

ТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ ПРОБІОТИКА ДЛЯ ПТАХІВ

Гужвинська С.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

У статті наведені результати щодо технології створення пробіотика на основі молочнокислих бактерій з використанням різних варіантів захисних середовищ при ліофілізації. Проведені дослідження антагоністичних властивостей пробіотика до умовно-патогенної мікрофлори в умовах in vivo. Рекомендуємо при виготовленні пробіотиків використовувати захисні середовища.

Головним напрямком розвитку біотехнологій мікробного синтезу в сільському господарстві є створення з їх допомогою екологічно й економічно вигідних, оригінальних технологій одержання нових кормових добавок, лікарських засобів та інших речовин для потреб тваринництва й ветеринарної медицини [1, 2]. Біотехнологічні технології широко використовуються у виробництві біологічно активних речовин – пробіотиків, ферментів, антибіотиків, вакцин, діагностикумів тощо [3, 4].

В останні роки у ветеринарії та медицині все більше використовують пробіотики – препарати на основі живих культур мікроорганізмів – симбіонтів шлунково-кишкового тракту людини й тварин, здатних розмножуватись у кишечнику хазяїна та стабілізувати нормальну мікрофлору [5].

Ефективність використання біотерапевтичних препаратів сьогодні доведена й дає позитивні результати в різних галузях сільського господарства. Біопрепарати на основі молочнокислих бактерій усувають негативні ефекти, що виникають при застосуванні антибіотичних препаратів, і дисбіотичні порушення в макроорганізмі та сприяють відновленню автохтонної мікрофлори. Через це збільшуються й потреби в біо-терапевтичних препаратах, а також висувуються підвищені вимоги щодо їхньої якості та складу.

Мета роботи – створення технології пробіотичного препарату на основі молочнокислих бактерій для птахів. Необхідність розробки обумовлена потребами усунення недоліків існуючих препаратів, їх удосконалення за рахунок підвищення ефективності технологічного процесу.

Методика досліджень. Об'єктами досліджень були штами *Lactobacillus plantarum* 7-317 *Lactobacillus* та *Bifidobacterium adolescentis* 17-316, які досліджували на можливість використання як основи для створення пробіотичного препарату для птахів. Для культивування лакто- та біфідобактерій використовували середовища МРС, Блаурока, агар з гідролізованим молоком, МПА, МПБ, знежирене молоко.

Було виготовлено три дослідні серії пробіотика на основі молочнокислих бактерій і використані три варіанти захисних середовищ з метою їх ліофілізації.

Вивчення антагоністичних властивостей дослідних серій пробіотика щодо ентеробактерій в умовах in vivo проводили на перепелах, яких відбирали за методом аналогів з урахуванням походження та живої маси при народженні.

Для проведення експерименту були сформовані дослідні та контрольна групи перепелів по 15-17 голів у кожній. Птиці дослідних груп пробіотичний препарат давали з кормом протягом 5 діб, серії № 1, № 2, № 3. Тваринам четвертої групи – пробіотичний препарат, серії № 1, п'ятої групи – пробіотичний препарат, серії № 2, шостої групи – пробіотичний препарат, серії № 3, – з розрахунку $5,0 \times 10^8 \text{ см}^3$ на голову, а на шосту добу птахів цих груп заражали токсигенною культурою *E.coli* O9 №60 (LD_{50}), введена доза складала $2,0 \times 10^9 \text{ см}^3 \text{ м.к. в } 0,1 \text{ мл та } 0,2 \text{ мл}$ фізіологічного розчину. Спостереження за тваринами проводили на протягом 15 діб.

Визначення кількісного вмісту мікроорганізмів тонкої кишки у лабораторних тварин проводили на початку досліду та на сьому добу після останнього введення індикаторних штамів. Бактеріологічне дослідження здійснювали з використанням

живильних середовищ: МРС-4 та Блаурокка для культивування лакто- та біфідобактерій, середовище Ендо, кров'яний і сольовий агар, МПБ, МПА для культивування ентеробактерій. Ідентифікацію культур мікроорганізмів здійснювали на підставі дослідження їх морфологічних, культуральних і біохімічних властивостей. Морфологію мікроорганізмів визначали при мікроскопії мазків, пофарбованих за Грамом.

Результати досліджень. У ННЦ «ІЕКВМ» виготовлено три дослідні серії пробіотика на основі молочнокислих бактерій з різними варіантами захисних середовищ. На зовнішній вигляд виготовлений нами препарат являє собою суху розсипчасту масу чи рідину білого або кремового кольору, без запаху, до складу якої входять штами молочнокислих та біфідобактерій.

Таблиця — Вплив захисного середовища на вияв антагоністичної активності пробіотика за відношенням до токсигенного штаму *E.coli* O9

№	Група птахів	Препарат	Мікроорганізми, які задавали птахам	Кількість КУО у вмісті прямої кишки $\times 10^6$ lg/cm ³	
				На початку досліджу	На кінці досліджу
1	1 дослідна	Пробіотик, з захисним середовищем № 1	<i>Lactobacillus plantarum</i> № 7	9,1	9,8
2	2 дослідна	Пробіотик, з захисним середовищем № 2	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> № 17-316	8,7	9,4
3	3 дослідна	Пробіотик, з захисним середовищем № 3	<i>Lactobacillus plantarum</i> № 7-317	8,4	9,8
			<i>Bifidobacterium adolescentis</i> № 17-316	7,7	8,1
4	4 дослідна	Пробіотик, з захисним середовищем № 1	<i>Lactobacillus plantarum</i> № 7-317	7,1	7,7
			<i>E.coli</i> O9	9,6	8,7
5	5 дослідна	Пробіотик, з захисним середовищем № 2	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> № 17-316	7,9	8,7
			<i>E.coli</i> O9	9,4	7,5
6	6 дослідна	Пробіотик, з захисним середовищем № 3	<i>Lactobacillus plantarum</i> № 7-317	8,1	8,4
			<i>Bifidobacterium adolescentis</i> № 17-316	7,2	7,9
			<i>E.coli</i> O9	8,8	6,2

Динаміка загальної кількості лактобактерій і біфідобактерій у вмісті тонкого відділу кишечника перепелів представлена в таблиці. У птахів, які отримували пробіотик з різними варіантами захисних середовищ, після зараження ешеріхіями спостерігали зниження популяцій ентеробактерій у вмісті тонкого відділу кишки. Встановлено, що всі три серії пробіотика в умовах *in vivo* мають антагоністичну активність щодо токсигенного штаму *E.coli* O9 № 60. З представленої таблиці видно, що інгібуюча здатність молочнокислих бактерій відрізнялась у різних штамів. Встановлено, що пробіотик із захисним середовищем № 3 володів найбільшою активністю за відношенням до *E.coli*.

Таким чином, усі дослідні серії пробіотика з різними захисними середовищами мають виражену антагоністичну активність щодо патогенних й умовно-патогенних мікроорганізмів і стимулюють збільшення корисної мікрофлори (лакто- та біфідобактерій) в шлунково-кишковому тракті лабораторних птахів.

Висновки. Запропонована нова технологія створення пробіотика на основі молочнокислих бактерій з використанням різних варіантів захисних середовищ з метою їх ліофілізації, які підтримують і підвищують основні терапевтичні функції лактобактерій.

Список літератури

1. Вольська, О. Г. Вибір наповнювачів для готових лікарських форм препаратів на основі селекціонованих штамів лактобацил [Текст] / О. Г. Вольська та інш. // Одеський медичний журнал. — 2006. — № 5(97). — С. 3-6. 2. Гужвинська, С. О. Застосування пробіотиків у птахівництві [Текст] / С. О. Гужвинська // Птахівництво: міжвід. темат. наук. зб. — Х. — 2003. — Вип. 53. — С. 552 - 556. 3. Кігель, Н. Ф. Технології бактеріальних препаратів для функціональних продуктів і біологічно активних добавок [Текст]: автореф. дис. д-ра техн. наук: 03.00.20 / Н. Ф. Кігель; [Укр. держ. ун-т харч. технологій]. — К., 2003. — 46 с. 4. Квасников, Е.И. Молочнокислые бактерии и пути их использования [Текст] / Квасников Е.И., Нестеренко О.А.- М., Наука, 1975. — 384 с. 5. Яновський, Д. С. Мікробіологічна характеристика системи «організм господаря — мікробіоценози різних екологічних ніш» як основа створення мультипробіотиків нових поколінь [Текст]: автореф. дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.07 / Д. С. Яновський; [І-т мікробіології та імунології ім. І. І. Мечнікова]. — Харків, 2006. — 52 с.

PRODUCTION TECHNOLOGY OF PROBIOTIC FOR AVIAN

Gujvinskaya S.A.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine»,
Kharkov

Results on production technology of probiotic for avian based on lactobacilluses with using of different variants of shielding media at lyophilization are presented in the article. Tests of antagonistic features of probiotic to opportunistic pathogenic microflora in conditions in vivo have been conducted. We recommend to use protectants at production of probiotics.

УДК 619:616-07.006

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР) ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРС

Гулюкин М.И., Козырева Н.Г., Ломакина Н. Ф., Иванова Л.А., Лопунов С.В.

ГНУ ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, Москва

В статье рассматривается область применения ПЦР в диагностике и изучении лейкоза КРС, исходя из особенностей течения заболевания.

Лейкоз КРС широко распространен по всему миру, включая Россию, и наносит существенный экономический урон странам с развитым животноводством. Поскольку на текущий момент нет способов предупреждения и лечения лейкоза КРС, существует две альтернативы: игнорировать или искоренять болезнь. Выбор стратегии зависит от экономического состояния субъекта, будь то страна или отдельное хозяйство. На сегодняшний день лейкоз КРС фактически полностью ликвидирован в странах Евросоюза в результате проведения многолетних мероприятий по выбраковке инфицированных животных. В России лейкоз КРС официально регистрируется с 1965 г.,—хотя первые случаи болезни относятся к 1927 году, - и занимает одно из первых мест в списке наиболее распространенных заболеваний. На протяжении ряда десятилетий в Российской Федерации проводится комплекс мероприятий по борьбе с лейкозом, которые регламентированы «Правилами по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота» (утверждены МСХ и ПРФ 11.05.1999 N 399).

По мере развития научно-методологической базы и накопления знаний об особенностях течения болезни и его возбудителе, менялась тактика диагностики и борьбы с этим заболеванием.

Изоляция из стада инфицированных животных с последующей их заменой здоровым молодняком, а также ликвидация вируса в популяции быков-производителей на племенных предприятиях составляют суть противолейкозных мероприятий. Эффективность проводимых мер во многом зависит от методов, которые используют для обнаружения вирусной инфекции, с учетом возраста и условий содержания