УДК 579.62: 579.873.13

ВІДНОВЛЕННЯ ТА КОРЕКЦІЯ БАЛАНСУ МІКРОБІОТИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ КРОЛІВ, ПОРУШЕНОГО ВНАСЛІДОК ВВЕДЕННЯ АНТИБІОТИКІВ

Ю. М. ПОХИЛЬКО, аспірант*

Н. О. КРАВЧЕНКО, кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії пробіотиків

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН

E-mail: pohilko.yura@gmail.com

<https://doi.org/10.31548/bio2018.03.003>

Формування, збереженість та корекція балансу мікробіоти шлунково-кишкового тракту є складним процесом, в якому беруть участь фактори зовнішнього та внутрішнього середовища. Для вирішення вищезазначених проблем використовують пробіотичні препарати. Пробіотики, які на сьогодні застосовуються для профілактики та лікування захворювань шлунково-кишкового тракту кролів, мають у своєму складі бактерії, виділені з різних еконіш. Проте відомо, що найбільшою ефективністю характеризуються пробіотичні препарати на основі представників облигатної мікробіоти шлунково-кишкового тракту того виду тварин, для якого рекомендовані зазначені препарати. У зв'язку з цим актуальним залишається створення пробіотичного препарату для кролів на основі біологічно активних представників облигатної мікробіоти їх шлунково-кишкового тракту. Мета – дослідити здатність штаму бактерій *Lactobacillus helveticus* 13/2 відновлювати та коригувати баланс мікробіоти шлунково-кишкового тракту молодняку кролів, порушеного внаслідок використання антибіотиків. Методи: мікробіологічні та статистичні. Результати: відновлення балансу мікробіоти шлунково-кишкового тракту кролів, порушеного внаслідок введення антибіотиків, розпочалося вже на першу добу після додавання бактеріальної суспензії штаму *Lactobacillus helveticus* 13/2 до питної води. Титр бактерій становив 1×10^8 КУО/мл. Найвищою ефективністю відзначалося введення високих доз (50 та 100 мл/л) бактеріальної суспензії, що забезпечувало позитивну динаміку чисельності облигатної (молочнокислі бактерії, біфідобактерії, кишкова паличка) та зниження чисельності факультативної мікробіоти (дріжджоподібні гриби) у кишківнику дослідних тварин порівняно з інтактними.

Ключові слова: кишкова мікробіота, дисбактеріоз, пробіотики, молочнокислі бактерії, кролі

Вступ. Мікробна система макроорганізму виконує широкий спектр життєво важливих локальних і системних функцій, бере участь у процесах їх регуляції, істотно впливає на структурно-функціональний

стан внутрішніх органів та імунну систему. Тому збереження здоров'я людини та тварин цілком залежить від формування та підтримання нормальної мікробної екосистеми макроорганізму [1-4].

* Науковий керівник – кандидат ветеринарних наук Н. О. Кравченко

Формування і збереженість мікробіоценозів є складним динамічним багатоступеневим процесом, в якому беруть участь фактори зовнішнього та внутрішнього середовища. Одним з найважливіших мікробних угруповань макроорганізму є біоценоз шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Середовище кишківника відповідає екологічному оптимуму тільки для порівняно невеликої кількості видів мікроорганізмів, що складають загальне різноманіття його мікробіоти [2]. Заселення облігатною мікробіотою біотопів макроорганізму розпочинається відразу після народження. У становленні взаємовідносин мікробіота-хазяїн виділяють три фази: заселення, адаптація і відбір та збереження відібраних популяцій [6, 7]. Надалі на баланс мікробіоти впливає багато екзогенних та ендогенних факторів. Важливим завданням є збереження балансу та корекція кишкового біоценозу макроорганізму. Найвагомішим фактором бар'єрної функції кишківника є взаємодія кишкової мікробіоти, епітелію та імунної системи його слизової оболонки [8]. Зазначені чинники утворюють кишковий бар'єр, який забезпечує захист організму від негативного біологічного впливу і можливість адекватної імунної реакції [9-12].

Успіх корекції дисбактеріозу кишківника безпосередньо залежить від того, наскільки ефективно з нього будуть еліміновані чужорідні й патогенні мікроорганізми. З цієї метою застосовують антибіотики, кишкові антисептики, бактеріофаги. Проте їх використання з метою деконтамінації патогенної та умовно-патогенної мікрофлори пов'язано з низкою побічних ефектів і може поглибити дисбаланс у складі кишкової мікробіоти.

У зв'язку з цим упродовж останніх років в Україні та світі підвищилась зацікавленість до бактеріальних препаратів на основі живих мікробних культур – про-

біотиків. Найчастіше до складу таких препаратів входять молочнокислі бактерії (МКБ). Характерною властивістю МКБ є здатність продукувати речовини (органічні кислоти, етанол, гідроген пероксид, лізоцим, низин, ацидофілін, лактоцил, лактобrevін, лактобацилін та ін.), що мають виражену антибіотичну активність. МКБ проявляють антагонізм до різних груп мікроорганізмів, у тому числі патогенних та умовно-патогенних [5].

Пробіотики, які застосовуються для профілактики та лікування захворювань шлунково-кишкового тракту кролів, мають у своєму складі бактерії, виділені з різних еконіш. Такі препарати є універсальними та рекомендовані для різних видів тварин, у тому числі і кролів. У зв'язку з цим актуальним залишається створення пробіотичного препарату на основі біологічно активних представників облігатної мікробіоти шлунково-кишкового тракту саме цих тварин.

Раніше нами показано, що чисельність молочнокислих бактерій у шлунково-кишковому тракті кролів перевищує чисельність біфідобактерій незалежно від раціону та типу годівлі [13]. Тому перспективною групою мікроорганізмів для створення пробіотичного препарату для кролів є бактерії роду *Lactobacillus*, які мають статус «Generally recognized as safe» та «Qualified presumption of safety», тобто їх використання є абсолютно безпечним.

Мета роботи – дослідити здатність штаму бактерій *Lactobacillus helveticus* 13/2 відновлювати баланс мікробіоти ШКТ молодняку кролів та коригувати його порушення, що були спричинені введенням антибіотиків.

Під терміном «відновлення» балансу мікробіоти шлунково-кишкового тракту ми розуміли встановлення чисельності груп мікроорганізмів у межах норми, що спостерігається у тварин інтактною групи;

під терміном «корекція» – збільшення чисельності облігатної та/або зменшення факультативної мікробіоти відносно інтактної групи.

Матеріали та методи досліджень.

Досліди проводили на безпородних здорових кролях віком 28 діб, що харчувалися за комбінованим типом годівлі у віварії лабораторії пробіотиків Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України (ІСМАВ НААН). Перед початком проведення експерименту відбирали проби вмісту товстого кишківника для дослідження видового та кількісного складу мікробоценозу ШКТ молодняку кролів.

Тварин розділено на три контрольні та п'ять дослідних груп тварин, по 8 голів у кожній. Перша контрольна група тварин залишалась інтактною упродовж всього експерименту. Решта кролів отримували препарат «Трисульфонвет» (Україна) для моделювання у тварин штучного дисбактеріозу кишківника. Добова доза складала 100 мл препарату на 100 л питної води упродовж 5 діб, відповідно до інструкції. По завершенню курсу у тварин фіксували дисбактеріоз мікробіологічними дослідженнями. Після антибіотикотерапії тварини другої контрольної групи отримували ферментно-пробіотичну кормову добавку «Імунобактерин-D» (Україна), до складу якої входять бактерії *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, а тварини третьої контрольної групи отримували лише звичайний раціон.

У дослідних групах тварин використовували штам молочнокислих бактерій *Lactobacillus helveticus* 13/2, виділений зі шлунково-кишкового тракту кроля. Даний штам попередньо досліджений та ідентифікований в лабораторії пробіотиків ІСМАВ НААН [19-21]. Тваринам четвертої групи до питної води додавали суспензію МКБ, культивованих на гідролізованому молоці в розрахунку 1мл/л,

тваринам п'ятої групи – 5 мл/л, тваринам шостої групи – 10 мл/л, тваринам сьомої групи – 50 мл/л, тваринам восьмої групи – 100 мл/л. Титр бактерій становив 10^8 КУО/мл.

Експеримент тривав 14 діб. Проби відбирали на першу, третю, сьому та чотирнадцяту добу експерименту.

Видовий та кількісний склад мікробоценозу ШКТ молодняку кролів визначали шляхом висівання проб вмісту товстого кишківника на селективні живильні середовища: біфідобактерії – на середовище Блаурокка, молочнокислі бактерії – на капустяний агар (за Є. І. Квасниковим) та MRS (за J. C. De Man, M. Rogosa and M. E. Sharp), бактерії групи кишкової палички – на середовище Ендо, дріжджоподібні гриби – на середовище Сабуро з 0,1 г/л антибіотику ципрофлоксацину. Ідентифікацію вирослих мікроорганізмів проводили за морфологічними, культуральними, фізіологічними та біохімічними властивостями [17].

Загальну кількість бактерій розраховували за формулою:

$$X = Z \times 10^n / Y,$$

де X – кількість бактерій, КУО/г;

Z – кількість вирослих колоній;

10^n – величина, зворотна розведенню;

Y – посівна доза, мл.

Статистичну обробку даних здійснювали методом дисперсійного аналізу, використовуючи програму “Microsoft Excel 2010”. Різницю між значеннями показників, що порівнювалися, вважали вірогідною при $p \leq 0,05$ [18].

Результати досліджень та їх обговорення. Для усунення дисбактеріозу у сільськогосподарських тварин дедалі більшої популярності набуває застосування пробіотиків. Дана робота присвячена відновленню і корекції балансу мікробіоти ШКТ кролів після антибіотикотерапії за використання штаму МКБ, виділеного з

травного тракту кроля та відібраного нами у попередніх дослідженнях як перспективного для створення пробіотику.

Відомо, що вся мікробіота ШКТ поділяється на облігатну та факультативну. Облігатна мікробіота представлена в основному біфідо- та молочнокислими бактеріями. Біфідобактерії є природними біосорбентами та здатні накопичувати значну кількість сполук важких металів, феноли, формальдегіди та ін. токсичні речовини, які потрапляють в макроорганізм із навколишнього середовища. Вони здатні посилювати гідроліз (розщеплення) білків, зброджувати цукор, розщеплювати жири, розчиняти клітковину, стимулювати перистальтику кишечника та забезпечувати нормальну евакуацію його вмісту. Біологічно активні речовини, які вони продукують, беруть участь в обмінних процесах організму, знижують токсичне навантаження на печінку. За їх впливу нормалізується склад крові (підвищується вміст гемоглобіну та знижується швидкість осадження еритроцитів) тощо [25].

Вже після першої доби експерименту нами відмічено поліпшення кількісного складу кишкової мікрофлори у тварин дослідних груп та другої контрольної групи, що отримувала «Імунобактерин-D» порівняно із тваринами, які отримували тільки звичайний раціон (третя група) (табл. 1.).

Достовірну різницю за чисельністю біфідобактерій у ШКТ спостерігали у тварин всіх дослідних груп стосовно контрольних. Так, кількість біфідобактерій у другій і третій контрольних групах становила не більше ніж $(4,2 \pm 0,3) \times 10^2$, у четвертій дослідній групі підвищувалася до $(3,1 \pm 0,2) \times 10^3$, у п'ятій – збільшувалася ще на порядок $(2,8 \pm 0,6) \times 10^4$, а у шостій-восьмій групах наближалася до інтактної $(4,1-5,8) \times 10^6$.

Молочнокислі бактерії заселяють різні відділи травного тракту, починаючи з ротової порожнини і закінчуючи прямою кишкою. Вони продукують молочну

кислоту, лактазу, пероксид водню, лізоцим та різноманітні антибіотикоподібні сполуки, які пригнічують ріст гнилісних, умовно патогенних та патогенних мікроорганізмів [23]. Бактерії цієї групи стимулюють фагоцитоз та синтез імуноглобулінів, формують колонізаційну резистентність тощо [24]. Значення біфідо- та молочнокислих бактерій обумовлено двома взаємопов'язаними функціями: їх участю в обмінних процесах і захистом макроорганізму від проникнення інфекцій іззовні.

Чисельність молочнокислих бактерій, що колонізують шлунково-кишковий тракт дослідних тварин, після першої доби експерименту відрізнялася меншою мірою. Використання «Імунобактерину-D» сприяло збільшенню кількості МКБ у шлунково-кишковому тракті тварин другої групи вже після першого введення порівняно з третьою контрольною групою. На нашу думку, такий результат обумовлений наявністю у складі препарату ферментативних речовин (ксиланаза, протеаза, амілаза), які здатні проявляти пребіотичний ефект та стимулювати ріст облігатної мікробіоти шлунково-кишкового тракту.

Збільшення чисельності МКБ відносно третьої контрольної групи, нами відмічено також у сьомій та восьмій дослідних групах тварин, за введення більш високих доз (50 та 100 мл на 1 л питної води) бактеріальної суспензії досліджуваного штаму МКБ.

Бактерії групи кишкової палички з нормальною ферментативною активністю, що зброджують лактозу, належать до облігатної мікробіоти шлунково-кишкового тракту тварин та людини. Зазначені бактерії є головним конкурентом умовно-патогенних мікроорганізмів, вони перешкоджають заселенню чужорідними мікроорганізмами кишкової стінки. Кишкова паличка всередині кишківника поглинає вільний молекулярний кисень,

який є токсичним для біфідобактерій і молочнокислих бактерій, і таким чином створює сприятливі умови для розвитку бактерій даних груп [22]. Кишкова паличка зі слабо вираженими ферментативними властивостями, що погано зброджує лактозу є умовно-патогенною для макроорганізму, значне підвищення її чисельності опосередковано свідчить про початок дисбактеріозу, адже відбувається за рахунок скорочення кількості нормальної мікрофлори кишківника.

Згідно одержаних нами результатів, після першої доби експерименту частка кишкової палички з нормальною ферментативною активністю в інтактній групі становила 82 %. Найбільш істотне зниження даного показника стосовно інтактної групи – до 71 % спостерігали у третій контрольній групі. У другій контрольній і четвертій-шостій дослідних групах частка кишкової палички з нормальною ферментативною активністю перебувала в межах 78-81 %. Співвідношення кишкової палички з нормальною та слабо вираженою ферментативною активністю у тварин сьомої та восьмої груп становило відповідно 83-82 % до 17-18 %. Вищезазначене дає змогу зробити висновок, що введення високих доз бактеріальної суспензії МКБ забезпечує не тільки загальне підвищення чисельності кишкової палички у кишківнику дослідних тварин, але і нормалізує співвідношення бактерій з нормальною і слабо вираженою ферментативною активністю (табл. 1).

Дріжджоподібні гриби належать до умовно-патогенних мікроорганізмів, які у невеликій кількості входять до складу мікробіоти ШКТ. Порушення імунітету з різних причин, у тому числі і внаслідок антибіотикотерапії, призводять до стрімкого підвищення їх чисельності. Як свідчать дані, наведені у таблиці 1, найбільшу кількість дріжджоподібних грибів порівняно з інтактною групою нами виявлено

у тварин третьої контрольної групи, які не отримували жодних речовин для відновлення або корекції балансу кишкової мікробіоти. Дещо підвищена чисельність дріжджоподібних грибів була відмічена за використання «Імунобактерину-D» (друга група) і бактеріальної суспензії МКБ у дозі 10 мл/л (шоста група). У тварин четвертої та п'ятої дослідних груп встановлено зниження чисельності дріжджоподібних грибів у шлунково-кишковому тракті як відносно другої і третьої контрольних, так і щодо інтактної групи. Кількість дріжджоподібних грибів у тварин сьомої і восьмої груп, які одержували 50 і 100 мл/л бактеріальної суспензії МКБ відповідно, була практично на рівні з інтактною групою.

Склад мікробіоти ШКТ молодняку кролів на третю добу експерименту наведено у таблиці 2. Звертає на себе увагу достовірне збільшення чисельності біфідобактерій у тварин сьомої та восьмої груп стосовно інтактної групи. Чисельність МКБ у тварин п'ятої-восьмої дослідних груп істотно підвищувалася порівняно з відповідними результатами, одержаними на першу добу експерименту. Кількість МКБ у восьмій дослідній групі тварин на третю добу вийшла на рівень інтактної групи. Чисельність дріжджоподібних грибів у тварин всіх дослідних груп не перевищувала $3,3 \times 10^3$, і була достовірно нижчою, ніж у тварин інтактної групи (табл. 2).

Як свідчать результати, наведені у таблиці 3, вже на сьому добу експерименту чисельність біфідобактерій у шлунково-кишковому тракті тварин четвертої-сьомої дослідних груп достовірно не відрізнялася від показника інтактної групи, а восьмої групи – навіть перевищувала зазначений показник (табл. 3). Кількість МКБ у дослідних групах була дещо нижчою щодо інтактної, хоча і зростала стосовно другої та третьої кон-

1. Склад мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту молодянку кролів на I добу експерименту,
КУО/г ($M \pm m$, $n = 8$)

Групи бактерій	Контрольні групи тварин			Дослідні групи тварин				
	Перша група (Інтактна)	Друга група (Імунобактерин-D)	Третя група (вода)	Четверта група (1 мл/л)	П'ята група (5 мл/л)	Шоста група (10 мл/л)	Сьома група (50 мл/л)	Восьма група (100 мл/л)
Біфідобактерії	$(7,8 \pm 0,6) \times 10^6$	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,8 \pm 0,2) \times 10^2$	$(3,1 \pm 0,2) \times 10^3 abc$	$(2,8 \pm 0,6) \times 10^4 abc$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^6 abc$	$(4,8 \pm 0,6) \times 10^6 abc$	$(5,8 \pm 0,2) \times 10^6 abc$
Молочнокислі бактерії	$(7,4 \pm 0,3) \times 10^8$	$(3,7 \pm 0,6) \times 10^4$	$(4,9 \pm 0,4) \times 10^3$	$(1,3 \pm 0,1) \times 10^4 abc$	$(2,2 \pm 0,3) \times 10^4 abc$	$(3,2 \pm 0,6) \times 10^4 abc$	$(3,8 \pm 0,5) \times 10^5 abc$	$(5,1 \pm 0,3) \times 10^5 abc$
Загальна кількість кишкової палички	$(8,7 \pm 0,7) \times 10^5$	$(4,2 \pm 0,2) \times 10^5$	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^2$	$(3,3 \pm 0,5) \times 10^3 abc$	$(2,6 \pm 0,1) \times 10^4 abc$	$(4,3 \pm 0,2) \times 10^6 abc$	$(4,7 \pm 0,7) \times 10^6 abc$	$(5,6 \pm 0,3) \times 10^6 abc$
Кишкова паличка з нормальною ферментативною активністю, %	82	78	71	78	81	79	83	82
Кишкова паличка зі слабко вираженою ферментативною активністю, %	18	22	29	22	19	21	17	18
Дріжджоподібні гриби	$(9,8 \pm 1,2) \times 10^3$	$(6,7 \pm 0,6) \times 10^4$	$(2,9 \pm 0,3) \times 10^5$	$(3,7 \pm 0,3) \times 10^3 abc$	$(2,8 \pm 0,2) \times 10^3 abc$	$(5,2 \pm 0,6) \times 10^4 abc$	$(1,6 \pm 0,2) \times 10^4 abc$	$(1,2 \pm 0,4) \times 10^4 abc$

Примітка: а-достовірна різниця порівняно з першою групою; b-достовірна різниця порівняно з другою групою; c-достовірна різниця порівняно з третьою групою.

2. Склад мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту молодняку кролів на 3 добу експерименту,
КУО/г ($M \pm m$, $n = 8$)

Групи бактерій	Контрольні групи тварин			Дослідні групи тварин				
	Перша група (Інтактна)	Друга група (Імунобакте-рин-D)	Третя група (вода)	Четверта група (1 мл/л)	П'ята група (5 мл/л)	Шоста група (10 мл/л)	Сьома група (50 мл/л)	Восьма група (100 мл/л)
Біфідобактерії	$(5,1 \pm 0,4) \times 10^6$	$(3,1 \pm 0,1) \times 10^4$	$(1,2 \pm 0,1) \times 10^3$	$(2,4 \pm 0,4) \times 10^4$ abc	$(1,4 \pm 0,1) \times 10^5$ abc	$(2,7 \pm 0,2) \times 10^6$ abc	$(1,3 \pm 0,2) \times 10^7$ abc	$(2,7 \pm 0,1) \times 10^7$ abc
Молочнокислі бактерії	$(6,7 \pm 0,3) \times 10^8$	$(2,7 \pm 0,2) \times 10^6$	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^6$	$(2,8 \pm 0,1) \times 10^6$ abc	$(8,7 \pm 0,6) \times 10^6$ abc	$(4,3 \pm 0,7) \times 10^6$ abc	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^7$ abc	$(6,4 \pm 0,4) \times 10^8$ bc
Загальна кількість кишкової палички	$(7,9 \pm 0,5) \times 10^5$	$(4,2 \pm 0,2) \times 10^5$	$(5,9 \pm 0,7) \times 10^4$	$(3,7 \pm 0,4) \times 10^4$ abc	$(2,7 \pm 0,3) \times 10^5$ abc	$(1,8 \pm 0,2) \times 10^6$ abc	$(3,2 \pm 0,3) \times 10^6$ abc	$(2,3 \pm 0,3) \times 10^6$ abc
Кишкова паличка з нормальною ферментативною активністю, %	84	80	79	78	80	82	84	83
Кишкова паличка зі слабо вираженою ферментативною активністю, %	16	20	21	22	20	18	16	17
Дрожжоподібні гриби	$(7,3 \pm 0,8) \times 10^3$	$(1,2 \pm 0,2) \times 10^5$	$(4,0 \pm 0,5) \times 10^5$	$(2,6 \pm 0,2) \times 10^3$ abc	$(3,3 \pm 0,4) \times 10^3$ abc	$(1,8 \pm 0,2) \times 10^3$ abc	$(2,6 \pm 0,3) \times 10^3$ abc	$(2,2 \pm 0,6) \times 10^3$ abc

Примітка: а-достовірні різниця порівняно з першою групою; б-достовірні різниця порівняно з другою групою; с-достовірні різниця порівняно з третьою групою.

Таблиця 3 Склад мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту молодняку кролів на 7 добу експерименту,
КУО/г ($M \pm m$, $n = 8$)

Групи бактерій	Контрольні групи тварин				Дослідні групи тварин			
	Перша група (Інтактна)	Друга група (Імунобакте- рин-D)	Третя група (вода)	Четверта група (1 мл/л)	П'ята група (5 мл/л)	Шоста група (10 мл/л)	Сьома група (50 мл/л)	Восьма група (100 мл/л)
Біфідобактерії	$(8,3 \pm 0,6) \times 10^6$	$(1,3 \pm 0,1) \times 10^6$	$(1,8 \pm 0,2) \times 10^5$	$(7,7 \pm 0,9) \times 10^6$ bc	$(7,8 \pm 0,6) \times 10^6$ bc	$(7,3 \pm 1,2) \times 10^6$ bc	$(8,0 \pm 1,1) \times 10^6$ bc	$(7,7 \pm 0,9) \times 10^7$ abc
Молочнокислі бактерії	$(5,2 \pm 0,5) \times 10^8$	$(2,5 \pm 0,1) \times 10^6$	$(1,8 \pm 0,1) \times 10^6$	$(6,3 \pm 0,1) \times 10^6$ abc	$(6,8 \pm 1,1) \times 10^6$ abc	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^7$ abc	$(6,4 \pm 0,6) \times 10^7$ abc	$(8,2 \pm 1,1) \times 10^7$ abc
Загальна кількість кишкової палички	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^6$	$(1,5 \pm 0,2) \times 10^5$	$(1,3 \pm 0,1) \times 10^5$ ab	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^6$ abc	$(1,4 \pm 0,2) \times 10^6$ abc	$(2,5 \pm 0,4) \times 10^6$ abc	$(2,3 \pm 0,6) \times 10^6$
Кишкова паличка з нормальною ферментативною активністю, %	84	81	77	78	82	84	81	82
Кишкова паличка зі слабко вираженою ферментативною активністю, %	16	19	23	22	18	16	19	18
Дріжджоподібні гриби	$(5,5 \pm 0,6) \times 10^3$	$(5,5 \pm 0,6) \times 10^3$	$(1,0 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,7 \pm 0,6) \times 10^4$ abc	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^3$ abc	$(1,5 \pm 0,5) \times 10^2$ abc	$(3,0 \pm 0,1) \times 10^2$ abc	$(5,0 \pm 0,2) \times 10^2$ abc

Примітка: а-достовірність порівняння з першою групою; b-достовірність порівняння з другою групою; c-достовірність порівняння з третьою групою.

Таблиця 4. Склад мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту молодняку кролів на 14 добу експерименту, КУО/г
($M \pm m$, $n = 8$)

Групи бактерій	Контрольні групи тварин			Дослідні групи тварин				
	Перша група (Інтактна)	Друга група (Імунобакте- рин-Д)	Третя група (вода)	Четверта група (1 мл/л)	П'ята група (5 мл/л)	Шоста група (10 мл/л)	Сьома група (50 мл/л)	Восьма група (100 мл/л)
Біфідобактерії	$(4,3 \pm 0,8) \times 10^6$	$(3,7 \pm 0,3) \times 10^6$	$(2,2 \pm 0,6) \times 10^6$	$(4,0 \pm 0,5) \times 10^6$	$(3,7 \pm 0,6) \times 10^6$	$(3,5 \pm 0,5) \times 10^6$	$(4,0 \pm 0,8) \times 10^6$	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^7$ abc
Молочнокислі бактерії	$(3,1 \pm 0,1) \times 10^8$	$(1,2 \pm 0,1) \times 10^7$	$(5,8 \pm 1,1) \times 10^6$	$(5,7 \pm 0,6) \times 10^6$ ab	$(1,7 \pm 0,1) \times 10^7$ abc	$(1,8 \pm 0,1) \times 10^7$ abc	$(4,5 \pm 0,5) \times 10^8$ bc	$(7,0 \pm 0,1) \times 10^8$ abc
Загальна кількість кишкової палички	$(1,8 \pm 0,1) \times 10^6$	$(4,5 \pm 0,6) \times 10^6$	$(3,7 \pm 0,3) \times 10^6$	$(4,7 \pm 0,8) \times 10^6$ ba	$(3,7 \pm 0,7) \times 10^6$ ba	$(5,0 \pm 0,1) \times 10^6$ abc	$(4,2 \pm 0,7) \times 10^6$ ba	$(4,1 \pm 0,8) \times 10^6$ ba
Кишкова паличка з нормальною ферментативною активністю, %	86	83	79	82	81	83	82	81
Кишкова паличка зі слабо вираженою ферментативною активністю, %	14	17	21	18	19	17	18	19
Дріжджоподібні гриби	$(1,8 \pm 0,3) \times 10^3$	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^3$	$(1,8 \pm 0,6) \times 10^4$	$(1,0 \pm 0,2) \times 10^4$ ab	$(0,7 \pm 0,1) \times 10^4$ abc	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^3$ bc	$(7,8 \pm 1,3) \times 10^2$ abc	$(1,8 \pm 0,4) \times 10^2$ abc

Примітка: а-достовірні різниці порівняно з першою групою; b-достовірні різниці порівняно з другою групою; c-достовірні різниці порівняно з третьою групою.

трольних груп. Особливо слід зауважити, що нами відмічено суттєве зменшення чисельності дріжджоподібних грибів (10^2 КУО/г) у дослідних тварин, що отримували суспензію досліджуваного штаму МКБ у дозі 10 і більше мл на літр питної води (таб. 3).

Дані мікробіологічного дослідження складу мікробіоти шлунково-кишкового тракту кролів на 14-ту добу експерименту представлено в таблиці 4. Згідно отриманих даних, підвищення чисельності біфідобактерій до $(1,2 \pm 0,3) \times 10^7$ КУО/г спостерігали у тварин восьмої дослідної групи.

Про ефективність застосування штаму *L. helveticus* 13/2 для корекції та відновлення мікробіоти ШКТ кролів, свідчить зростання чисельності МКБ у сьомій та восьмій дослідних групах порівняно з контрольною інтактною групою тварин.

Звертає на себе увагу, що у зазначених дослідних групах кролів також зберігалася тенденція до зменшення чисельності дріжджоподібних грибів (10^2 КУО/г).

Отже, додавання суспензії молочнокислих бактерій *L. helveticus* 13/2 до питної води упродовж 14 діб забезпечувало достовірне зниження чисельності факультативної мікробіоти та підвищення чисельності біфідобактерій і МКБ у шлунково-кишковому тракті кролів.

Висновки. Виявлено здатність штаму молочнокислих бактерій *Lactobacillus helveticus* 13/2 відновлювати та коригувати баланс мікробіоти шлунково-кишкового тракту молодяку кролів, викликаного застосуванням антибіотиків.

Отримані дані можуть бути використані для створення пробіотичного препарату для кролів на основі штаму *Lactobacillus helveticus* 13/2.

Література

1. Biagi, E., Candela, M., Franceschi, C., & Brigidi, P. The aging gut microbiota: new perspectives. *Ageing research reviews*. 2011. Vol. 10, No. 4. P. 428–429.
2. Interactive probiotics. Enrica P. Department of Life Sciences and Systems Biology University of Torino. Italy: CRC Press, 2014. P. 274.
3. Todar K. The Normal Bacterial Flora of Humans. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Madison, WI: Kenneth Todar. – Retrieved 2012.04.06 – URL: <http://textbookofbacteriology.net/index.html> (дата звернення: 12.04.2018).
4. Erkosar B. Transient adult microbiota, gut homeostasis and longevity: novel insights from the *Drosophila* model. *FEBS Lett*. 2014. Vol. 588, No. 22. P. 4250–4257.
5. Ornellas R. Maria S. et al. "Selection of Lactic Acid Bacteria with Probiotic Potential Isolated from the Fermentation Process of "Cupuaçu"(Theobroma grandiflorum)." *Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health*. Springer, Cham, 2017. 1-16.
6. Walker W. Initial intestinal colonization in the human infant and immune homeostasis. *Ann Nutr Metab*. 2013. Vol. 63, No. 2. P. 8–15.
7. Langhendries J. P. Early bacterial colonisation of the intestine: why it matters. *Ital J Pediatr*. 2005. Vol. 31. P. 360–369.
8. Kosiewicz M. M. Gut Microbiota, Immunity, and Disease: A Complex Relationship. *Front Microbiol*. 2011. Vol. 2, No. 180.
9. Haller, Dirk, et al. Guidance for Substantiating the Evidence for Beneficial Effects of Probiotics: Probiotics in Chronic Inflammatory Bowel Disease and the Functional Disorder Irritable Bowel Syndrome–3. *The Journal of nutrition*. 2010. Vol. 140. No 3. P. 690–697.
10. Schenk M., Mueller C. The mucosal immune system at the gastrointestinal barrier. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*. 2008. Vol. 22. No. 3. P. 391–409.
11. Lievin-Le Moal V., Servin, A. L. The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: mucins, antimicrobial peptides, and microbiota. *Clin Microbiol Rev*. 2006. Vol. 19. No 2. P. 315–337.

12. Magalhaes J. G., Tattoli I., Girardin S. E. The intestinal epithelial barrier: how to distinguish between the microbial flora and pathogens. *Semin Immunol.* 2007. Vol. 19. No.2. P. 106–115.
13. Похилько Ю. М., Кравченко Н. О., Божок Л. В., Агеев В. О., Дмитрук О. М. Особливості кишкового мікробоценозу молодняку кролів за різних типів годівлі. *Сільськогосподарська мікробіологія.* 2015. № 22. С. 48–52.
14. Антипова Л. В., Глотова И. А., Рогов И. А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. *Современные проблемы науки и образования.* 2009. № 1. С. 22–22.
15. Влізло В. В., Сімонов М. А., Каплінський В. П. Засоби підвищення резистентності курчат. *Ветеринарна медицина України.* 2006. № 7. С. 42–47.
16. В. В. Мокрозуб, Л. М. Лазаренко, Л. П. Бабенко, Спивак Н. Ю. Антибактеріальні й імуномодуляторні властивості штамів лакто- та біфідобактерій за експериментальної стафілокової інфекції. *Biotechnologia Acta.* 2012. Т. 5. № 2. С. 98–104.
17. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume One: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria. Springer Science & Business Media. Garrity G. M., 2012. 1422 p.
18. Motulsky H. *Intuitive biostatistics: a nonmathematical guide to statistical thinking.* Oxford University Press, USA, 2014. 517 p.
19. Похилько Ю. М.; Кравченко Н. О. Вплив середовища культивування на антагоністичну активність молочнокислих бактерій. *Сільськогосподарська мікробіологія.* 2016. № 24. С. 64–72.
20. Похилько Ю. М., Кравченко, Н. О. Виділення із травної системи кролів молочнокислих бактерій, перспективних для створення пробіотичних препаратів. *Біоресурси і природокористування.* 2016. Т. 8(5-6). С. 63–66.
21. Похилько Ю. М.; Кравченко Н. О. Стійкість бактерій роду *Lactobacillus* до метаболітів травної системи. *Мікробіологія і біотехнологія.* 2017. № 2 (38). С. 101–111.
22. Білько І. П. Біофункціональна роль нормальної мікрофлори організму людини. *Сімейна медицина.* 2009. № 1. С. 74–75.
23. Klaenhammer T. R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS microbiology reviews.* 1993. № 12(1-3). P. 39–86.
24. Pablo M. A., Gaforio J. J., Gallego A. M. et al. Evaluation of immunomodulatory effects of nisin-containing diets on mice. *FEMS Immunology and Medical Microbiology.* 1999. № 24(1). P. 35–42.
25. Коршунов В.М., Ефимов Б.А., Пикина А.П. Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррекции микрофлоры кишечника. *Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2000. №3. С. 86–91.

References

1. Biagi, E., Candela, M., Franceschi, C., & Brigidi, P. (2011). The aging gut microbiota: new perspectives. *Ageing research reviews*, 10(4), 428–429.
2. Pessione, E. ed. (2014). *Interactive probiotics.* Italy: CRC Press, 274.
3. The Normal Bacterial Flora of Humans. Available at: <http://textbookofbacteriology.net/index.html>
4. Erkosar, B., & Leulier, F. (2014). Transient adult microbiota, gut homeostasis and longevity: novel insights from the *Drosophila* model. *FEBS letters*, 588(22), 4250–4257.
5. Ornellas, R. M. S., Santos, T. T., Arcucio, L. B., Sandes, S. H. C., Oliveira, M. M., Dias, C. V., Nicoli, J. R. (2017). Selection of Lactic Acid Bacteria with Probiotic Potential Isolated from the Fermentation Process of “Cupuaçu” (*Theobroma grandiflorum*). In *Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health* (pp. 1–16). Springer, Cham.
6. Walker, W. A. (2013). Initial intestinal colonization in the human infant and immune homeostasis. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 63(Suppl. 2), 8–15.
7. Langhendries, J. P. (2005). Early bacterial colonisation of the intestine: why it matters. *Italian Journal of Pediatrics*, 31(6), 360.
8. Kosiewicz, M. M., Zirnheld, A. L., & Alard, P. (2011). Gut microbiota, immunity, and disease: a complex relationship. *Frontiers in microbiology*, 2, 180.
9. Haller, D., Antoine, J. M., Bengmark, S., Enck, P., Rijkers, G. T., & Lenoir-Wijnkoop, I. (2010). Guidance for Substantiating the Evidence for Beneficial Effects of Probiotics: Probiotics in Chronic

- Inflammatory Bowel Disease and the Functional Disorder Irritable Bowel Syndrome–3. The Journal of nutrition, 140(3), 690-697.
10. Schenk, M., Mueller, C. (2008). The mucosal immune system at the gastrointestinal barrier. Best Practice and Research Clinical Gastroenterology, 22(3), 391-409.
 11. Liñvin-Le Moal, V., Servin, A. L. (2006). The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: mucins, antimicrobial peptides, and microbiota. Clinical microbiology reviews, 19(2), 315-337.
 12. Magalhaes, J. G., Tattoli, I., Girardin, S. E. (2007). The intestinal epithelial barrier: how to distinguish between the microbial flora and pathogens. In Seminars in immunology, 19(2), 106-115.
 13. Pokhilko Yu. M., Kravchenko N. O., Bozhok L.V., Ageev V.O., Dmitruk O.M. (2015). Osoblyvosti kyshkovogo mikrobocenozu molodnjaku kroliv za riznyh typiv godivli [Features of intestinal micrococoenosis of young rabbits for different types of feeding. Agricultural Microbiology]. Agricultural Microbiology, 22, 48-52.
 14. Antipova L.V., Glotova I.A., Rogov I. A. (2009). Metody issledovanija mjas a i mjasnyh produktov [Methods of studying meat and meat products]. Modern problems of science and education. 1, 22-22.
 15. Vlaso V.V., Simonov M.A. Kapilnyj V.P. (2006). Zasoby pidvyshhennja rezystentnosti kurchat [Means of increasing the resistance of chickens]. Veterinary Medicine of Ukraine. 7, 42-47.
 16. Mokrozub V.V., Lazarenko L.N., Babenko L.P., Shinkarenko L.N., Spivak N. Ya. (2012). Antybakterial'ni j imunomoduljuval'ni vlastyvoli shtamiv lakto- ta bifidobakterij za eksperymental'noi' stafilokokovoi' infekcii [Antibacterial and immunomodulating properties of strains of lactoid bifidobacteria in experimental staphylococcal infection]. Biotechnologia Acta. 5 (2), 98-104.
 17. Garrity, G. M. (2012). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume One: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria. Springer Science and Business Media, 1422 p.
 18. Motulsky, H. (2014). Intuitive biostatistics: a nonmathematical guide to statistical thinking. Oxford University Press, USA. 517.
 19. Pokhilko Yu. M., Kravchenko N. O. (2016). Vplyv seredovyshha kul'tyvuvannja na antagonistychnu aktyvnist' molochnokyslyh bakterij [Influence of cultivation environment on antagonistic activity of lactic acid bacteria]. Agricultural Microbiology. 24, 64-72.
 20. Pokhilko Yu. M., Kravchenko, N.O. (2016). Vydilennja iz travnoi' systemy kroliv molochnokyslyh bakterij, perspektyvnyh dlja stvorennja probiotychnykh preparativ [Isolation from the digestive system of rabbits lactic acid bacteria, promising for the creation of probiotic preparations]. Bioresources and nature management. 8 (5-6), 63-66.
 21. Pokhilko Yu. M., Kravchenko, N.O. (2017). Stijkist" bakterij rodu lactobacillus do metabolitiv travnoi' systemy [Resistance of bacteria of the genus lactobacillus to the metabolites of the digestive system]. Microbiology and Biotechnology. 2 (38), 101-111.
 22. Bilko I.P. (2009). Biofunkcional'na rol' normal'noi' mikroflory organizmu ljudyny [Biophunctional role of normal microflora of human organism]. Family medicine. 1, 74-75.
 23. Klaenhammer, T. R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS microbiology reviews, 12(1-3), 39-85.
 24. Pablo M. A., Gaforio J. J., Gallego A. M. et al. (1999). Evaluation of immunomodulatory effects of nisin-containing diets on mice. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 24(1), 35-42.
 25. Korshunov V. M., Efimov B. A., Pikina, A. P. (2000). Harakteristika biologicheskikh preparatov i pishhevyh dobavok dlja funkcional'nogo pitanija i korrekcii mikroflory kishechnika [Characteristics of biological preparations and food supplements for functional nutrition and correction of intestinal microflora]. Microbiology, 3, 86-91.

SUMMARY

Yu.M. Pokhylko, N.O. Kravchenko. *Recovery and correction of the balance of microbiota of the gastrointestinal tract of rabbits, disabled as resulting from the use of antibiotics // Biological Resources and Nature Managment. – 2018. – 10, №3–4. – P.19–31. <https://doi.org/10.31548/bio2018.03.003>*

The formation, preservation and correction of the balance of the microbiota of the gastrointestinal tract is a complex process in which factors of the external and internal environment participate. To solve the above problems, probiotic preparations are used. However, probiotics, which are used for the preven-

tion and treatment of diseases of the gastrointestinal tract of rabbits, include bacteria isolated from various ecological niches. However, probiotic preparations are more effective, if they include representatives of obligate microbiota of the gastrointestinal tract of animals for which the drug is used. In connection with this, the creation of a probiotic preparation based on biologically active representatives of the obligate microbiota of the gastrointestinal tract of these animals remains topical. Goal. To investigate the ability of the strain of *Lactobacillus helveticus* 13/2 bacteria to restore and correct the balance of the microbiota of the gastrointestinal tract of young rabbits disrupted by the use of antibiotics. Methods. Microbiological and statistical. Results. Restoration

of microbiota balance of the gastrointestinal tract of rabbits, impaired due to the introduction of antibiotics began in the first day after addition of the strain *Lactobacillus helveticus* 13/2 bacterial suspension to drinking water. The bacteria titer was 1×10^8 CFU / ml. The highest observed efficiency of administration of high doses (50 and 100 ml / l) of the bacterial suspension, provided the positive dynamics of obligate (lactic acid bacteria, bifidobacteria, *E. coli*) and reducing the number of optional microbiota (yeast-like fungi) in experimental animals as compared with the intestine intact.

Keywords: intestinal microbiota, dysbiosis, probiotics, lactic acid bacteria, rabbits

АННОТАЦІЯ

Ю. Н. Похилько, Н. А. Кравченко. Восстановление и коррекция баланса микробиоты желудочно-кишечного тракта кролей, нарушенного в результате введения антибиотиков // Биоресурсы и природопользование. – 2018. – 10, №3–4. – С.19–31. <https://doi.org/10.31548/bio2018.03.003>

Формирование, сохранность и коррекция баланса микробиоты желудочно-кишечного тракта является сложным процессом, в котором участвуют факторы внешней и внутренней среды. Для решения вышеуказанных проблем используют пробиотические препараты. Однако пробиотики, которые применяются для профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта кролей, имеют в своем составе бактерии, выделенные из различных эконис. Однако более эффективны пробиотические препараты в состав которых входят представители облигатной микробиоты желудочно-кишечного тракта животных, для которых применяется препарат. В связи с этим актуальным остается создание пробиотического препарата для кролей на основе биологически активных представителей облигатной микробиоты желудочно-кишечного тракта именно этих животных. Цель: исследовать способность штамма бактерий *Lactobacillus helveticus* 13/2 восстанавливать и корректиро-

вать баланс микробиоты желудочно-кишечного тракта молодняка кролей, нарушенного в результате использования антибиотиков. Методы: микробиологические и статистические. Результаты: восстановление баланса микробиоты желудочно-кишечного тракта кроликов, нарушенного вследствие введения антибиотиков, началось уже в первые сутки после добавления бактериальной суспензии штамма *Lactobacillus helveticus* 13/2 к питьевой воде. Титр бактерий составлял 1×10^8 КОЕ / мл. Наивысшей эффективностью отмечалось введение высоких доз (50 и 100 мл / л) бактериальной суспензии, обеспечивало положительную динамику численности облигатной (молочнокислые бактерии, бифидобактерии, кишечная палочка) и снижение численности факультативной микробиоты (дрожжеподобные грибы) в кишечнике подопытных животных по сравнению с интактными.

Ключевые слова: кишечная микробиота, дисбиоз, пробиотики, молочнокислые бактерии, кроли