

ПРЕВЕНТИВНА АКТИВНІСТЬ КОМПОЗИЦІЇ ЛАКТО- І БІФІДОБАКТЕРІЙ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ КОЛІБАКТЕРІОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ У БІЛИХ МИШЕЙ

Г. В. КОЗЛОВСЬКА, кандидат ветеринарних наук, доцент
Національний університет біоресурсів і природокористування
України
E-mail: anakozlovska@i.ua

Анотація. Розробка засобів профілактики і терапії на базі ефективних мікроорганізмів - це важливий елемент ветеринарної науки і практики. Якісний пробіотик має бути за походженням із організму, для якого він буде застосовуватися, бути стійким до кислот та жовчі, здатним до адгезії та колонізації в кишковому тракті або в інших еконішах, продукувати антибіотичні субстанції, запобігати розвитку каріогенних і патогенних мікроорганізмів, бути безпечним за використання в продуктах та клініці, а також мати чітко визначену і підтверджену клінічними дослідженнями позитивну дію на здоров'я людини або тварин. У статті представлено результати вивчення превентивної дії мікробної композиції (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *B. adolescentis*) за експериментальної колібактеріозної інфекції у білих мишей. Попереднє, протягом 10 днів перед зараженням, введення тваринам селекціонованих штамів лакто- і біфідобактерій обумовлювало достовірний превентивний ефект у експериментальних тварин. Отриманий позитивний ефект підтверджує перспективність конструювання на основі селекціонованих штамів лакто- і біфідобактерій пробіотичних препаратів.

Ключові слова: пробіотики, молочнокислі бактерії, біфідобактерії, превентивний ефект

Актуальність. Розробка засобів профілактики і терапії на базі ефективних мікроорганізмів – важливий елемент ветеринарної науки і практики [1,3,11-13]. Не дивлячись на десятки впроваджених у практику ветеринарної медицини пробіотичних препаратів, постійно існує потреба у створенні нових, що пояснюється, зокрема, селекцією штамів – збудників захворювань «нечутливих» до дії мікроорганізмів – складових пробіотиків [1-4].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Сьогодні загально-визнано, що ідеальний пробіотик має бути за походженням із організму, для якого він буде застосовуватися, бути стійким до кислот та жовчі,

здатним до адгезії та колонізації в кишковому тракті або в інших еконішах, продукувати антибіотичні субстанції, запобігати розвитку каріогенних та патогенних мікроорганізмів, бути безпечним за використання в продуктах та клініці і мати чітко визначену і підтверджену клінічними дослідженнями позитивну дію на здоров'я людини або тварин [4, 5].

Цілком очевидно, що молочнокислі та біфідобактерії найбільше відповідають цим вимогам, і сьогодні – це визнані класичні пробіотики, які широко застосовуються не тільки як фармацевтичні препарати, а й біологічно активні компоненти у харчових продуктах. Кількість справжніх пробіотиків з числа молочнокислих та біфідобактерій з визначеним клінічним ефектом не така вже й значна – це такі культури як *Lactobacillus acidophilus* (NCFB 1478), *Lactobacillus casei* штам Shirota, *Lactobacillus GG* (ATCC 53103) і *Lactobacillus acidophilus* LA1. Поряд із ними застосовуються *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* Danone 001, *Enterococcus faecium* та *Bifidobacterium sp.* [9, 13]. І оскільки вони є представниками нормальної мікрофлори, то основними механізмами, що визначають їх ступінь та напрямок оздоровчого впливу на організм хазяїна, є колонізаційна резистентність та імуномодуюча здатність, регуляція метаболічних процесів та детоксикаційна дія, антиканцерогенна активність. Ці функції реалізуються через ферментативну, вітамінсинтезуючу, антагоністичну та адгезивну активності.

Антагоністична активність є надзвичайно важливою для пробіотичних штамів. Здатність молочнокислих та біфідобактерій пригнічувати розвиток мікроорганізмів інших таксономічних груп є однією з найважливіших біологічних властивостей цих мікроорганізмів [6, 8, 11].

Розрізняють два типи антагоністичних відносин – неспецифічний і специфічний. Неспецифічний антагонізм молочнокислих бактерій зумовлений власне їхніми основними метаболітами – органічними кислотами, перекисом водню, діацетилом, утворенням декон'югованих жовчних кислот і інгібіторів ферментів тощо [1].

Молочнокислі бактерії також здатні утворювати бактеріолізینی, які виступають як неспецифічний антибактеріальний бар'єр. Наприклад, лізоцим руйнує клітинну стінку грампозитивних бактерій та діє як імуномодулятор, активізуючи таким чином захисні функції макроорганізму [1].

Біфідобактерії здатні до ферментації фруктоолігосахаридів, інуліну, харчових волокон та муцину у кишечнику. Це надає їм значної переваги над іншими представниками мікробіоценозу кишечника за рахунок швидшого розмноження, короткої лаг-фази, конкуренції за джерела живлення, шляхом зміни рН чи окисно-відновного потенціалу середовища [1].

Специфічний тип антагонізму – це здатність мікроорганізмів продукувати специфічні сполуки: антибіотики, бактеріоцини та ряд літичних ферментів.

Сьогодні розроблено немало пробіотиків, що застосовують у ветеринарній практиці: «SL-бактерин», «Біоспорин», «Лактин-К», «Пробіон», «Моноспорин-ПК», «Зооспорин», «Біфідобактерин ветеринарний», «Бактонорм». Але зважаючи на те, що еволюціонує мікробіоценоз організму разом з еволюцією всього живого на планеті, вітчизняні та зарубіжні науковці продовжують працювати над удосконаленням відомих та створенням якісно нових біопрепаратів для потреб ветеринарної медицини.

Мета дослідження - вивчення превентивної активності штамів лакто- і біфідобактерій, ізольованих від телят та селекціонованих за виразними антагоністичними і адгезивними властивостями.

Матеріали і методи дослідження. 1. Мікробна композиція «Індинорм-1» - штами *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* та *B. adolescentis* (у співвідношенні 1:1:1), ізольовані від телят та селекціоновані за виразними антагоністичними і адгезивними властивостями [7].

2. *Salmonella typhimurium* № 371, штам отриманий з колекції мікроорганізмів Науково-дослідного контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів.

3. *E. coli* №7 (польовий штам, виділений з ректальної проби хворого з ознаками діареї поросяти).

4 Білі миші, самці вагою 16 – 18 г.

За принципом аналогів було сформовано 2 групи білих мишей по 49 голів (група 1 – дослідна, група 2 – контрольна). Дослідних та контрольних мишей утримували в аналогічних умовах. Тваринам дослідної групи вводили через зонд (у шлунок) мікробну композицію «Індинорм-1», по 500 млн. м. т., щоденно протягом 10 діб, тваринам контрольної групи – «плацебо» (мікробну композицію, інактивовану прогріванням при 85° С протягом 15 хв). На 11 добу від початку експерименту всіх мишей заразили вірулентним штамом *E. coli* № 7 (інтраперитонеально, різними дозами, кожною – по 7 голів).

1. Вплив мікробної композиції «Індинорм-1» на резистентність білих мишей до експериментального зараження вірулентним штамом *E. coli*, $n = 7$

Доза зараження <i>E. coli</i> (млн м.т.)	Дослідна група			Контрольна група		
	вижили	Загину- ли	% заги- белі	вижили	Загину- ли	% загибе- лі
500,0	2	5	71,4	0	7	100,0
250,0	2	5	71,4	0	7	100,0
125,0	3	4	57,1	1	6	85,7
62,5	4	3	42,8	3	4	57,1

31,2	6	1	14,2	3	4	57,1
15,6	6	1	14,2	5	2	28,5
7,8	7	0	0	5	2	28,5
3,9	7	0	0	6	1	14,2

За тваринами спостерігали протягом 10 діб, фіксуючи їх стан: апетит, поведінку, наявність ознак захворювання, загибель.

Результати спостережень піддавали статистичній обробці, визначаючи LD₅₀ для контрольної та дослідної груп.

Результати дослідження та їх обговорення. В результаті зараження білих мишей ознаки захворювання і загибель тварин спостерігались в обох групах. Проте у мишей контрольної групи летальність була помітно вищою. Результати експерименту представлені у нижченаведеній таблиці.

Результати дослідження свідчать про виразну превентивну дію мікробної композиції «Індинорм-1» на резистентність білих мишей до експериментального зараження вірулентним штамом *E. coli*. У дослідній групі тварин LD₅₀ *E. coli* становила 169,95 млн. м. т., тоді як для мишей контрольної групи цей показник був майже утричі меншим та становив 60,1 млн. м. т. Коефіцієнт захисту – 2,96 ($p < 0,05$).

Висновки і перспективи подальших досліджень. В експерименті використана мікробна композиція «Індинорм-1», до складу якої введені селекціоновані за виразною антагоністичною та адгезивною характеристиками штами лакто- і біфідобактерій. Отриманий превентивний ефект за експериментальної колібактеріозної інфекції у білих мишей, обумовлений мікробною композицією, підтверджує перспективність конструювання на її базі пробіотичних препаратів.

Список літератури

1. Акименко, Л. І. Пробиотики у ветеринарній медицині / Л. І. Акименко // Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 5. – С. 37-38.
2. Бондаренко, В. М. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией / В. М. Бондаренко, А. А. Воробьев // Микробиология. – 2004. – № 1. – С. 84-92.
3. Гужвинська, С. О. Застосування пробіотиків у птахівництві / С.О. Гужвинська // Птахівництво. – 2003. – № 53. – С. 552-556.
4. Кигель, Н. Ф. Новый бактериальный препарат «АФ» на основе молочнокислых бактерий и его биологические свойства / Н. Ф. Кигель // Микробиологический журнал. – 2000. – № 3. – С. 49-55.
5. Козловська, Г. В. Антагоністичні та адгезивні властивості біфідобактерій, виділених від телят / Г. В. Козловська, С. Г. Даниленко, В. Г. Скибіцький // Науковий вісник Львівського

національного університету ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – 2011. – Т. 13. № 4. – С. 177-181.

6. Литвин, В. П. Ефективні біологічні препарати при дисбактеріозі та ешерихіозі у тварин і птиці / В. П. Литвин, В. В. Поліщук, М. В. Ляпунов, С. С. Амрош // Науковий вісник Національного аграрного університету. – 2000. – Вип.28. – С. 129-133.

7. Методичні рекомендації з конструювання пробіотиків та застосування їх у практиці ветеринарної медицини / В. Г. Скибіцький, Г. В. Козловська, Ф. Ж. Ібатулліна і ін. – К.: ЗАТ «Нічлава», 2013. – 39 с.

8. Duggan, C. Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract / C. Duggan, J. Gannon, W. A. Walker // Am. J. Clin. Nutr. – 2002. – 75, Vol. 3. – P. 789-808.

9. Collins, M. D. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut / M. D. Collins, G. R. Gibson // Am. J. Clin. Nutr. – 1999. – Vol. 69(5) – P. 1052-1057.

10. Kalliomaki, M. Probiotics during pregnancy and breastfeeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant / M. Kalliomaki, E. Isolauri // Journal of Allergy and Clinical Immunology – 2002. – Vol. 109(1). – P. 119-21.

References

1. Akymenko, L.I. (2005). Probiotyky u veterynarniy medytsyni [Probiotics in veterinary medicine]. Veterinary medicine of Ukraine, 5, 37-38. (in Ukraine)

2. Bondarenko, V.M., Vorob'ev A.A. (2004). Dysbiozy y preparaty s probiotycheskoy funktsiyey [Dysbiosis and preparations with probiotic function] Journal of Mycology, 1, 84-92. (in Ukraine)

3. Huzhvyts'ka, S.O. (2003). Zastosuvannya probiotyky u ptakhivnytstvi [The use of probiotics in aviculture]. Aviculture, 53, 552-556. (in Ukraine)

4. Kyhel', N.F. (2000). Novyy bakteryal'nyy preparat «AF» na osnove molochnokyslykh bakteryy y eho byolohycheskye svoystva [New bacterial preparation "AF" based on lactic acid bacteria and its biological properties]. Microbiological Journal, 3, 49-55. (in Ukraine)

5. Kozlovs'ka, H.V. (2010). Adhezyvna aktyvnist' laktobakteriy ta bifidobakteriy, vydilenykh vid telyat [The adhesive activity of lactobacilli and bifidobacteria isolated from calves]. Bulletin of Agricultural Science Black Sea, 3, 2, 64-68. (in Ukraine)

6. Lytvyn, V.P., Polishchuk, V.V., Lyapunov, M.V., Amrosh S.S. (2000). Efektyvni biolohichni preparaty pry dysbakteriozi ta esherikhiozi u tvaryn i ptytsi [Effective biological preparations against dysbacteriosis and ehsherihiosis of animals and birds]. Scientific Bulletin of NAU, 28, 129-133. (in Ukraine)

7. Skybits'kyi, V.H., Kozlovs'ka, H.V., Ibatullina F.Zh. (2013). Metodychni rekomendatsiyi z konstruyuvannya probiotykyky ta zastosuvannya yikh u praktytsi veterynarnoyi medytsyny [Guidelines for the design of probiotics and their use in the practice of veterinary medicine]. Kiev. Ukraine: Nichlava, 39. (in Ukraine)

8. Duggan, C., Gannon, J., Walker W.A. (2002). Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract. Am. J. Clin. Nutr., 3, 789-808.
9. Collins, M.D., Gibson, G.R. (1999). Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the. Am. J. Clin. Nutr., 69(5), 1052-1057.
10. Kalliomaki, M., Isolauri, E. (2002). Probiotics during pregnancy and breastfeeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 109(1), 119-121.

ПРЕВЕНТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПОЗИЦИИ ЛАКТО- И БИФИДОБАКТЕРИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КОЛИБАКТЕРИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У БЕЛЫХ МЫШЕЙ

А. В. Козловская

Аннотация. Разработка средств профилактики и терапии на базе эффективных микроорганизмов - это элемент ветеринарной науки и практики. Качественный пробиотик должен происходить из организма, для которого он будет применяться, быть устойчивым к кислотам и желчи, способным к адгезии и колонизации в кишечном тракте или в других экониках; производить антибиотические субстанции, предотвращать развитие кариогенных и патогенных микроорганизмов, быть безопасными при использовании в продуктах и клинике, а также иметь четко определенное и подтвержденное клиническими исследованиями положительное воздействие на здоровье человека и животных. В статье представлены результаты изучения превентивного действия микробной композиции (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *B. adolescentis*) при экспериментальной колибактериозной инфекции у белых мышей. Предварительное, в течении 10 дней перед заражением, введение животным селекционированных штаммов лакто- и бифидобактерий обуславливало достоверный превентивный эффект у экспериментальных животных. Полученный положительный эффект подтверждает перспективность конструирования на основе селекционированных штаммов лакто- и бифидобактерий пробиотических препаратов.

Ключевые слова: пробиотики, молочнокислые бактерии, бифидобактерии, превентивный эффект

PREVENTIVE ACTIVITY OF LACTO- AND BIFIDOBACTERIA COMPOSITION IN THE EXPERIMENTAL COLIBACTERIOSIS INFECTION IN WHITE MICE

H. V. Koslovskaya

Abstract. *Development of prevention and treatment on the basis of effective microorganisms is an important element of veterinary science and practice. High-quality probiotic have to be the origin of the body to which it will be applied, have to be resistant to acid and bile, capable of adhesion and colonization in the intestinal tract or in other conditions; to product antibiotic substances; to prevent an amplification of cariogenic and pathogen microorganisms; must be safe for using in food and clinic and have a clear and tested by clinical studies a positive effect on human or animal health. In the article presents the results of studying of preventive activity of bacteria composition (L. acidophilus, L. rhamnosus, B. adolescentis) in the experimental colibacteriosis infection in white mice. The introduction of selected strains of bifidobacteria and lacto- indication for 10 days before infection caused preventive effect in experimental animals. These positive results show that the development of probiotic drugs on the basis of selection strains of lacto- and bifidobacteria is a perspective.*

Keywords: *probiotics, lactic acid bacteria, bifidobacteria, preventive effect*