

АНТАГОНІСТИЧНА ДІЯ ПРОБІОТИКІВ ЩОДО *P. AERUGINOSA* ТА ЗБУДНИКІВ АСОЦІЙОВАНИХ БАКТЕРІОЗІВ ПТИЦІ

Є. В. Ващук¹, канд. вет. наук, доцент

Сумський національний аграрний університет,
вул. Герасима Кондратьєва, 160, м. Суми, 40021, Україна

В умовах промислового ведення птахівництва економічно вигідним є застосування препаратів природного походження, що мають ефективну антагоністичну дію стосовно збудників інфекційних хвороб і здатність балансувати імунну відповідь. Підтверджено антагоністичну дію пробіотиків «Ентеронормін», «Субтиспорин» та «Lactisan Complex» щодо *P. aeruginosa* та збудників асоційованих бактеріозів курчат *E. coli*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium* в лабораторних умовах *in vivo* та *in vitro*. Вітчизняний пробіотик «Ентеронормін» при дослідженні *in vitro* проявляв вищу у 1,13 та 1,08 разів антагоністичну активність у порівнянні із засобами «Субтиспорин» та «Lactisan Complex», відповідно. Збереженість курчат при задаванні засобу «Ентеронормін» була на 10% вищою, ніж при застосуванні інших досліджуваних пробіотиків.

Ключові слова: АНТАГОНІСТИЧНА ДІЯ, ПРОБІОТИК, *P. AERUGINOSA*, *E. COLI*, *S. AUREUS*, *P. VULGARIS*, *S. TYPHIMURIUM*, ПСЕВДОМОНОЗ ПТИЦІ, КУРЧАТА-БРОЙЛЕРИ.

В умовах сучасного інтенсифікованого темпу ведення птахівничої промисловості формується комплекс факторів, які порушують природні захисні властивості організму птиці. Споживаючи гранульовані, часто оброблені термічно, корми, птиця у замкнутих приміщеннях позбавлена контакту з природними донорами нормальних мікроорганізмів, доступними в природі (грунт, комахи, рослини). У зв'язку з циклічними дезінфекціями, тривалим використанням антибіотиків, особливо широкого спектра дії, у внутрішньому середовищі птахівничих приміщень відбувається селекція резистентної до антибіотиків мікрофлори. У такому випадку виникає ситуація подібна до так званої стаціонарної «шпитальної інфекції» у гуманній медицині. *P. aeruginosa* є одним з представників мікробної флори, яка може швидко формувати стійкі штами та викликати гострий інфекційний процес із септичним перебігом у молодняку птиці та підгострий і хронічний – серед дорослої птиці, спричинюючи тим самим величезні збитки внаслідок загибелі та зниження продуктивності птиці. При цьому псевдомоноз птиці, не маючи характерної симптоматики, «маскуючись» під колібактеріоз, диспепсії, мікотоксикози та інші захворювання і патології, часто залишається не діагностованою інфекцією, продовжуючи й надалі розповсюджуватись у стаді та підвищувати вірулентність через пасажі на сприйнятливому поголів'ї.

Постійно зростаюча резистентність хвороботворних бактерій до використовуваних антибіотиків, а також зменшення асортименту їх за рахунок заборони профілактичного використання в Євросоюзі, є причиною зниження можливостей хіміотерапії птиці при появі бактеріозів. Все це стимулює розвиток засобів та схем застосування препаратів, альтернативних антибіотикам, з використанням пробіотиків. Аспекти використання пробіотиків у ветеринарії охоплюють досить широке коло проблем, починаючи від корекції кишкового біоценозу, і розповсюджуються на корекцію імунної, гормональної та ферментної систем як молодняку, так і дорослих тварин та птиці [1–4].

¹Науковий консультант – д. вет. н., професор Т. І. Фотіна

Метою досліджень було визначити антагоністичну дію вітчизняних пробіотиків «Субтиспорин», «Ентеронормін» у порівнянні із засобом іноземного виробництва «Lactisan Complex» *in vitro* та *in vivo* щодо епізоотичних культур *P. aeruginosa* та основних збудників асоційованих бактеріозів птиці.

Матеріали і методи. Ентеронормін – пробіотик, що містить життєздатні молочнокислі та спорогенні бактерії в унікальному симбіозі (*Enterococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bacillus subtilis spp.*) з додаванням пребіотичного хітозану та пептону (ТОВ «Айкам», Україна).

«Субтиспорин» – пробіотик, в якому основу засобу складає промислово цінний штам *Bacillus subtilis* 090 (ЛКХ «Біо-Віта», Україна).

До складу «Lactisan Complex» входять: молочнокислі бактерії *Lactococcus lactis*, *Carnobacterium divergens*, *Lactodacillus casei*, *Lactodacillus plantarum*; живі культури дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* (ЖНІ, Польща).

Антагоністичну дію пробіотиків досліджували якісним та кількісним методами щодо збудника псевдомонозу – *P. aeruginosa* та епізоотичних культур бактерій, що найчастіше виявлено в асоціаціях – *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, *S. typhimurium*. При дослідженні якісним методом в МПБ вносили препарат-пробіотик до робочої концентрації, інкубували 24 год, після чого в пробірки з МПБ та пробіотиком додавали досліджувані бактеріальні культури (змиви з добові агарових монокультур та у вигляді суміші культур), інкубували протягом доби при +37 °С. У контрольні пробірки з МПБ вносили досліджувані культури без додавання пробіотиків. Через 24 год. інкубації проводили пересіви на селективні та диференційно-діагностичні середовища з метою резольції досліджуваних культур. Відсутність росту досліджуваних культур свідчила про антагоністичну дію пробіотика.

Кількісно антагоністичну активність пробіотиків визначали методом відстроченого антагонізму за методикою перпендикулярних штрихів, що полягає у підсіванні тест-культур (в нашому випадку епізоотичних культур, виділених з патматеріалу від птиці) до попередньо за 48 год. вирощених на щільному живильному середовищі штрихів культур досліджуваних пробіотичних препаратів. Підсівали добові бульйонні монокультури та суміші культур. Пробіотичні препарати вважалися неактивними при утворенні зони затримки росту 0–5 мм, помірно активними – 6–10 мм, активними – 11–15 мм, високоактивними – більше 16 мм. Повторюваність дослідів – трикратна. Контролями росту тест-культур були їх паралельні посіви на чашки Петрі з аналогічним середовищем, але без культур-антагоністів [5,6].

Для визначення *in vivo* антагоністичної дії пробіотиків «Субтиспорин», «Ентеронормін» та «Lactisan Complex» щодо епізоотичних культур *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium* проводили експериментальні дослідження на курчатах-бройлерах добового віку кросу Cobb-500. Для цього формували 5 груп курчат по 10 голів. Усі групи курчат утримувались у відокремлених секціях в одному приміщенні при однакових параметрах мікроклімату. Годівлю у всіх групах здійснювали комбікормом з однієї партії, напування – перекип'яченою водою. Перша група була інтактним контролем (ІК) – умовно здорові курчата, яким не задавали жодних препаратів та які не піддавались зараженню. Група V – контрольна патологія (КП) – курчатам не задавали лікувальних препаратів на фоні зараження сумішшю бактеріальних культур. В другій (дослідній) групі проводили випоювання курчат препаратом «Ентеронормін» в дозі 0,03 г на голову з питною водою. В третій (дослідній) групі проводили випоювання курчат препаратом «Субтиспорин» в дозі 0,6 мл на 10 голів з питною водою. В четвертій (дослідній) групі застосовували кормову добавку «Lactisan Complex» у дозі 0,5 г на 0,5 л питної води. Всі досліджувані пробіотики задавали птиці протягом 10 діб. На четверту добу в другій, третій, четвертій та п'ятій групах проводили зараження курчат *per os* зависсю культур: гр. А – *P. aeruginosa*+*E. coli*+*S. aureus*; гр. Б – *P. aeruginosa*+*P. vulgaris*+*S. typhimurium* (змив з добової агарової культури у попередньо встановленій дозі LD₅₀ для кожної культури). Спостереження проводили протягом 14 діб шляхом щоденного обліку клінічного стану здоров'я курчат, кількості птиці, що захворіла та

загибла. Патматеріал від загиблої птиці підлягав бактеріологічному дослідженню з метою реізоляції культур.

Результати й обговорення. У тваринництві та ветеринарній медицині застосовуються пробіотичні препарати, створені на основі представників нормальної мікрофлори – переважно молочнокислих бактерій. Їх широке застосування зумовлене високою антагоністичною активністю до патогенних та умовно-патогенних бактерій, здатністю до адгезії на клітинах шлунково-кишкового тракту, їх імуномодулюючими властивостями, здатністю продукувати спектр біологічно активних речовин, вітамінів, незамінних амінокислот тощо.

Однією з головних вимог до пробіотичних штамів є антагоністична активність щодо патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів [8, 9]. Антагонізм представників нормальної мікрофлори обумовлюється продукцією природних антибіотичних речовин, органічних кислот, лізоциму, гідроген пероксиду та інших бактеріоцинів, які мають широкий спектр антимікробної дії [10], що зумовлює високу лікувально-профілактичну ефективність пробіотичних препаратів.

Публікацій щодо вивчення антагоністичної активності нових вітчизняних пробіотиків в умовах асоційованого псевдомонозу птиці недостатньо, що обґрунтовує актуальність та вектор наших досліджень.

При дослідженні якісним методом антагоністичної дії препаратів «Ентеронормін», «Субтиспорин» та «Lactisan Complex» на селективних та диференційних середовищах після висіву з МПБ в умовах введення пробіотиків росту культур не було виявлено. При висівах з контрольних пробірок без пробіотиків – на селективних та диференційних середовищах встановлено відповідний ріст бактеріальних культур (табл. 1).

Таблиця 1

Антагоністична дія пробіотиків щодо епізоотичних культур

| Бактеріальні культури | Ріст культур при введенні пробіотику | | | Контроль без пробіотиків |
|---|--------------------------------------|-------------|------------------|--------------------------|
| | Ентеронормін | Субтиспорин | Lactisan Complex | |
| <i>P. aeruginosa</i> | - | - | - | + |
| <i>E. coli</i> | - | - | - | + |
| <i>S. typhimurium</i> | - | - | - | + |
| <i>S. aureus</i> | - | - | - | + |
| <i>P. vulgaris</i> | - | - | - | + |
| <i>P. aeruginosa</i> + <i>E. coli</i> + <i>S. aureus</i> | - | - | - | + |
| <i>P. aeruginosa</i> + <i>P. vulgaris</i> + <i>S. typhimurium</i> | - | - | - | + |

Примітки: «-»–відсутність росту культур, «+»–наявність росту культур

Отримані результати свідчать, що досліджувані засоби проявляли активну антагоністичну дію щодо всіх дослідних епізоотичних штамів як у вигляді монокультур, так і в асоціації.

При дослідженні антагоністичної активності пробіотиків кількісним методом відстроченого антагонізму за методикою перпендикулярних штрихів найвищу активність проявляв препарат «Ентеронормін» – зона затримки росту становили від 13,3 до 17,5 мм. Дещо поступалися в кількісному вираженні активності препарати «Субтиспорин», «Lactisan Complex» – зони затримки росту становили від 11,0 до 16,8 мм (табл. 2).

Отримані результати свідчать, що досліджувані пробіотики були активними та високоактивними щодо епізоотичних культур в асоціації *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium*. Препарат «Ентеронормін» проявляв вищу у 1,13 та 1,08 разів активність у порівнянні із засобами «Субтиспорин» та «Lactisan Complex», відповідно.

Антагоністична активність пробіотиків щодо епізоотичних культур

| Бактеріальні культури | Зони затримки росту, мм | | |
|---|-------------------------|-------------|------------------|
| | Ентеронормін | Субтиспорин | Lactisan Complex |
| <i>P. aeruginosa</i> | 13,5 | 11,4 | 12,3 |
| <i>E. coli</i> | 13,2 | 11,0 | 11,7 |
| <i>S. typhimurium</i> | 15,8 | 14,3 | 14,7 |
| <i>S. aureus</i> | 14,2 | 13,8 | 14,4 |
| <i>P. vulgaris</i> | 17,5 | 15,3 | 16,8 |
| <i>P. aeruginosa</i> + <i>E. coli</i> + <i>S. aureus</i> | 13,3 | 11,0 | 11,5 |
| <i>P. aeruginosa</i> + <i>P. vulgaris</i> + <i>S. typhimurium</i> | 15,3 | 13,8 | 14,0 |
| В середньому, мм | 14,69 | 12,94 | 13,63 |

При експериментальному вивченні *in vivo* антагоністичної дії пробіотиків на фоні зараження *per os* курчат сумішшю бактеріальних культур *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium* збереженість курчат при задаванні пробіотиків становила 85 – 95 %. При цьому в групі контрольної патології показник збереженості в середньому складав 25 %, а в інтактному контролі – 100 % (табл. 3)

Таблиця 3

Збереженість курчат в умовах задавання пробіотиків «Ентеронормін», «Субтиспорин» та «Lactisan Complex» при експериментальному зараженні зависю бактеріальних культур

| Групи | | Кількість добового молодняка, гол | Вжило до 14 денного віку, гол. | Збереженість / в середньому по групі, % | |
|-----------------------------|---|-----------------------------------|--------------------------------|---|----|
| I контроль (ІК) | | 10 | 10 | 100 | |
| II дослідна | A | 10 | 10 | 100 | 95 |
| | B | 10 | 9 | 90 | |
| III дослідна | A | 10 | 9 | 90 | 85 |
| | B | 10 | 8 | 80 | |
| IV дослідна | A | 10 | 10 | 100 | 85 |
| | B | 10 | 7 | 70 | |
| V контрольна патологія (КП) | A | 10 | 3 | 30 | 25 |
| | B | 10 | 2 | 20 | |

Отримані результати підтверджують антагоністичні та, відповідно, захисні властивості пробіотиків «Ентеронормін», «Субтиспорин» та «Lactisan Complex» в умовах зараження курчат збудниками патогенів, які найчастіше виявляли в асоціації з *P. aeruginosa*. Відмічено, що збереженість курчат при задаванні засобу «Ентеронормін» була на 10 % вищою за інші досліджувані пробіотики.

ВИСНОВКИ

1. Пробиотики «Ентеронормін», «Субтиспорин» та «Lactisan Complex» проявляли активну антагоністичну дію щодо *P. aeruginosa* та збудників асоційованих бактеріозів курчат *E. coli*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium* при дослідженні в лабораторних умовах якісним та кількісним методами *in vitro* та в експерименті *in vivo*.

2. Вітчизняний пробіотик «Ентеронормін» при дослідженні *in vitro* мав вищу у 1,13 та 1,08 рази антагоністичну активність у порівнянні із засобами «Субтиспорин» та «Lactisan Complex», відповідно.

3. Збереженість курчат при задаванні засобу «Ентеронормін» була на 10% вищою, ніж при застосуванні інших досліджуваних пробіотиків в умовах експериментального псевдомонозу та асоційованих бактеріозів.

Перспективи досліджень. Встановлення ефективності та економічної доцільності використання вітчизняних пробіотиків у порівнянні із засобами іноземного походження для профілактики псевдомонозу та асоційованих бактеріозів птиці у виробничих умовах.

ANTAGONISTIC ACTION OF PROBIOTICS CONCERNING *P. AERUGINOSA* AND THE CAUSATIVE AGENTS OF ASSOCIATED BACTERIOSIS OF THE POULTRY

Ye. V. Vashchyk

Sumy National Agrarian University,
160, Gerasima Kondratyeva str., Sumy, 40021, Ukraine

S U M M A R Y

In industrial poultry farming, it is economically advantageous to use natural origin preparations that have an effective antagonistic effect against the causative agents of infectious diseases and the ability to balance the immune response. The antagonistic effect of the probiotics «Enteronormin», «Subtisporin» and «Lactisan Complex» on *P. aeruginosa* and causative agents of the associated bacteriosis of *E. coli*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium* in laboratory conditions in vivo and in vitro was confirmed. The domestic probiotic "Enteronormin" exhibited antagonistic activity in 1.13 and 1.08 times higher in comparison with «Subtisporin» and «Lactisan Complex», respectively, when tested in vitro. The preservation of chickens with the introduction of «Enteronormin» was 10 % higher than under the conditions of other probiotics.

Keywords: ANTAGONISTIC ACTION, PROBIOTIC, *P. AERUGINOSA*, *E. COLI*, *S. AUREUS*, *P. VULGARIS*, *S. TYPHIMURIUM*, PSEUDOMONOSIS OF THE POULTRY, CHICKEN-BROILERS.

АНТАГОНИСТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОБИОТИКОВ ОТНОСИТЕЛЬНО *P. AERUGINOSA* И ВОЗБУДИТЕЛЕЙ АССОЦИИРОВАННЫХ БАКТЕРИОЗОВ ПТИЦЫ

Е. В. Ващук

Сумский национальный аграрный университет
ул. Герасима Кондратьева, 160, г. Сумы, 40021, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В условиях промышленного ведения птицеводства экономически выгодным является применение препаратов природного происхождения, которые имеют эффективное антагонистическое действие в отношении возбудителей инфекционных болезней и способность балансировать иммунный ответ. Подтверждено антагонистическое действие пробиотиков «Энтеронормин», «Субтиспорин» и «Lactisan Complex» относительно *P. aeruginosa* и возбудителей ассоциированных бактериозов цыплят *E. coli*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium* в лабораторных условиях in vivo и in vitro. Отечественный пробиотик «Энтеронормин» при исследовании in vitro проявлял антагонистическую активность в 1,13 и 1,08 раза выше по сравнению со средствами «Субтиспорин» и «Lactisan Complex» соответственно. Сохранность цыплят при введении средства «Энтеронормин» была на 10% выше, чем в условиях применения других исследуемых пробиотиков.

Ключевые слова: АНТАГОНИСТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ, ПРОБИОТИК, *P. AERUGINOSA*, *E. COLI*, *S. AUREUS*, *P. VULGARIS*, *S. TYPHIMURIUM*, ПСЕВДОМОНОЗ ПТИЦЫ, ЦЫПЛЯТА-БРОЙЛЕРЫ.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Стегній Б. Т.* Пробиотики у тваринництві / Стегній Б. Т., Гужвинська С. О. // Вісник аграрної науки. – 2005. – № 2. – С. 26–29.
2. *Акименко Л. І.* Пробиотики у ветеринарній медицині / Л. І. Акименко // Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 5. – С. 37–38.
3. *Бабина М. П.* Коррекция иммунного статуса и повышение продуктивности цыплят-бройлеров пробиотиками / М. П. Бабина // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – Горки, 1998. – С. 294–299.
4. Антибактеріальні й імуномодулювальні властивості штамів лакто- та біфідобактерій за експериментальної стафілококової інфекції / В. В. Мокрозуб, Л. М. Лазаренко, Л. П. Бабенко [та ін.] // Біотехнологія. – 2012. – Т. 5, № 2 – С. 98–104.
5. *Егоров Н. С.* Микробы антагонисты и биологические методы определения антагонистической активности / Н. С. Егоров. – М.: Высшая школа, 1975. – 209 с.
6. *Агеєв В. О.* Фактори антагоністичної активності штамів бактерій -компонентів пробіотичних препаратів БПС 44 та БПС-Л / В. О. Агеєв, С. В. Дерев'яно // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Ґжицького. – Т. 12, № 2(44), ч. 1, 2010.–С.3-9.
7. *Голубіцька В. О.* Антагоністична дія композиційного препарату на основі молочнокислих бактерій на умовно-патогенні мікроорганізми / В. О. Голубіцька, О. С. Сулова, Л. С. Ястремська // Проблеми екологічної біотехнології. – 2017. – № 2. – С. 52–55.
8. *Kizerwetter-Świda M.* Selection of potentially probiotic *Lactobacillus* strains towards their inhibitory activity against poultry enteropathogenic bacteria / Magdalena Kizerwetter-Świda and Marian Binek // Polish journal of microbiology. – 2005. – Vol. 54, № 4. – P. 287–294.
9. А-амілази *Bacillus subtilis* / [Л. Д. Варбанець, К. В. Мишак, О. В. Мацелюх та ін.] // Мікробіол. журн. – 2006. – Т. 68, № 2. – С. 30–38.
10. *Todorov S. D.* Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* – production, genetic organization and more of action / S. D. Todorov // Brazilian journal of microbiology. – 2009. – Vol. 40, № 2. – P. 209–221.

Рецензент – В. Ю. Кассіч, д. вет. н., професор, завідуючий кафедрою епізоотології та паразитології СНАУ.