

УДК: 619:612.33:615.331:636.8

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ МИКРОФЛОРЫ, ИЗОЛИРОВАННОЙ ИЗ КИШЕЧНОГО ТРАКТА КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ КОТОВ

*Бордюгова С. С., кандидат ветеринарных наук,
Зайцева А.А., кандидат ветеринарных наук,
Атаманюк А.А., ассистент
ГОУ ЛНР ЛНАУ, г.Луганск, Украина*

Ключевые слова: Антибиотик, лактобактерии, бифидобактерии, чувствительность, антагонистическая активность.

В работе приведены данные о свойствах микроорганизмов, выделенных из кишечного тракта клинически здоровых котов. Установлена чувствительность лактобактерий и бифидобактерий к антибактериальным препаратам и антагонистическая активность по отношению к условно-патогенным микроорганизмам.

Введение. Открытие антибиотиков является одним из наиболее значимых достижений XX столетия. Известно, что пенициллин был выделен Флемингом в 20-х годах прошлого столетия из плесневелого гриба пеницилиум нотатум [1]. После этого изобретения антибиотики стали главным средством в борьбе с различными инфекционными заболеваниями, что способствовало расширению спектра их использования [2]. Именно неправильное и нерациональное использование антибиотиков в ветеринарной медицине способствовало появлению и распространению антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов среди животных [3].

Поэтому актуальным сегодня является применение пробиотиков – биопрепаратов, сконструированных на основе живых культур бактерий, выделенных из пищеварительного тракта животных, которые способны к размножению в кишечнике хозяина и стабилизируют его микрофлору [2]. Но прежде чем использовать или создавать пробиотик необходимо установить антагонистическую активность и чувствительность к антибиотикам микроорганизмов, которые входят в его состав. Установление чувствительности к антибиотикам является одним из обязательных исследований, потому что не исключена возможность одновременного применения антибиотиков и пробиотиков.

Цели работы - определение чувствительности к антибиотикам и антагонистической активности, выделенных из кишечника клинически здоровых котов, культур лакто - и бифидобактерий.

Материал и методика исследований. Микрофлору пищеварительного канала у 14 клинически здоровых кошек в возрасте от 8 месяцев до 11 лет, изучали на базе лаборатории изучения факторных инфекций факультета ветеринарной медицины ГОУ ЛНР ЛНАУ.

Для этого в стерильные пробирки с физиологическим раствором в объеме 9 см^3 от подопытных животных отбирали 1,0 г фекалий. Из первой пробирки, которая считалась за разведения 10^{-1} , готовили дальнейшие разведения до 10^{-10} , последовательно перенося 1 мл суспензии в пробирки с исходным разведением в следующие пробирки, в которых содержалось по $9,0 \text{ см}^3$ стерильного физиологического раствора. Затем проводили посевы разведений на чашки Петри с агаром. Для дрожжеподобных грибов использовали среду Сабуро, стафилококков - пептонно-солевую среду, МПА, энтеробактерий – среда Эндо, бифидобактерий – среда Блаурока, лактобацилл – среды MRS, обезжиренное молоко.

Дальнейшую идентификацию выделенных микроорганизмов по биохимическим свойствам проводили согласно «Определителя бактерий Берджи» [4].

После индикации и идентификации выделенных культур микроорганизмов определяли чувствительность к антибактериальным препаратам методом серийных разведений в питательном агаре. Антагонистические свойства микроорганизмов изучали на плотных питательных средах методом агаровых блочков по Егорову [3].

Результаты исследований и их обсуждение. При бактериологическом исследовании 14 проб фекалий клинически здоровых кошек, нами было выделено 94 культуры сапрофитных, условно-патогенных бактерий и дрожжеподобных грибов, которые относятся к 11 видам микроорганизмов.

В кишечном тракте клинически здоровых кошек чаще всего (в 100 % случаев), нами были выделены культуры *E. coli*, от 11 животных – *L. acidophilus*, *E. aerogenes*, *C. freundii*. Значительно реже, у 4 (4,25 %) случаях от общего количества изолированных культур, мы выделяли *K. pneumoniae*, *L. plantarum*, а такие микроорганизмы, как *C. albicans* и *S. aureus* – лишь в двух случаях (2,1 %). По результатам биологической пробы на белых мышах, нами выяснено, что все изолированные культуры микроорганизмов, представляют собой не патогенные штаммы.

Таблица № 1- Антибиотикограмма сапрофитных микроорганизмов родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* (n=24)

Антибиотики	Микроорганизмы рода <i>Lactobacillus</i>			Микроорганизмы рода <i>Bifidobacterium</i>		
	Ч, %	ПЧ, %	НЧ, %	Ч, %	ПЧ, %	НЧ, %
тилозомикол	6,7**	93,3***	0•	0**	100,0***	100,0•
энрофлоксацин	13,3*	53,3**	33,4•	0*	33,3**	66,7•
гентамицин	0*	26,6•	73,4•	0*	33,3•	66,7•
цефазолин	0***	100,0***	0••	0***	100,0***	0••
стрептомицин	13,3**	86,7***	0••	22,2**	77,8***	0••
бензилпенициллин	0*	0***	100,0••	0*	44,4***	55,6••
амоксисилин	6,7*	93,3***	0••	0*	100,0***	0••
цефтриаксон	46,6***	53,4***	0••	55,6***	44,4***	0••
тетрациклин	0*	6,7•	93,3•	0*	11,1•	88,9•
линкомицин	0*	0•	100,0•	0*	0•	100,0•
рифампицин	53,4**	46,7***	0••	66,7**	33,3***	0••

Примечание: Ч – чувствительные штаммы микроорганизмов (ингибирующая концентрация антибиотика * - до 1 мкг/мл, ** - до 4 мкг/мл, *** - до 2 мкг/мл); ПЧ – умеренно чувствительные микроорганизмы (ингибирующая концентрация антибиотика составляет • - 1-4 мкг/мл, •• - 1-8 мкг/мл, *** - до 16 мкг/мл); НЧ – не чувствительные штаммы микроорганизмов (ингибирующая концентрация антибиотика более чем • - 64 мкг/мл, •• - 128 мкг/мл).

Полученные результаты исследований свидетельствуют, что микроорганизмы рода *Lactobacillus* не чувствительны к 5 из 11 антибиотиков (гентамицину, цефазолину, бензилпенициллину, тетрациклину и линкомицину). К 9 антибиотикам микроорганизмы рода *Lactobacillus* являются умеренно чувствительными, кроме бензилпенициллина и линкомицина, у которых лактобактерии в 100,0% случаях не чувствительны. Микроорганизмы рода *Bifidobacterium* являются умеренно чувствительными ко всем антибиотикам кроме линкомицина и чувствительными только к 3 из 11 антибиотиков, а именно рифампицину, цефтриаксону и стрептомицину.

В дальнейшем мы установили антагонистическую активность сапрофитных микроорганизмов по отношению к условно патогенным бактериям.

Таблица № 2- Антагонистическая активность микроорганизмов родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* по отношению к условно патогенным микроорганизмам, выделенным из кишечника кошек

Штаммы лакто- и бифидо- бактерий Тест-культуры	Зона задержки роста, мм					
	<i>L. plantarum</i> «V» №22	<i>L. acidophilus</i> №31Sd	<i>L. acidophilus</i> №11L	<i>L. acidophilus</i> №24	<i>B. adolescentis</i> №23	<i>B. bifidum</i> №25
<i>E. coli</i> O1	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i> O2	10	10	20	15	0	0
<i>E. coli</i> O4	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i> O9	25	30	30	38	37	23
<i>E. coli</i> O18	0	0	2	2	0	0
<i>E. coli</i> O22	18	15	25	23	20	17
<i>E. coli</i> O83	9	5	10	0	0	0
<i>E. coli</i> O83	15	20	30	35	10	12
<i>E. aerogenes</i>	10	15	30	32	20	25
<i>B. subtilis</i>	12	11	20	8	0	0
<i>C. freundii</i>	20	15	18	22	22	18
<i>K. pneumoniae</i>	10	18	12	25	0	6
<i>S. aureus</i>	15	20	30	20	18	20
<i>C. albicans</i>	12	15	25	20	15	10

Примечание: до 10 мм – низкая; 10-15 мм – средняя; более 15 мм – высокая антагонистическая активность.

Проведенные исследования выявили, что различные штаммы молочнокислых микроорганизмов обладают различной антагонистической активностью. Самая высокая антагонистическая активность наблюдается у *L. acidophilus* №31 Sd, *L. acidophilus* №28 и *L. plantarum* «V» №22.

Заключение. Микроорганизмы родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* являются устойчивыми к половине антибактериальных препаратов, взятых в опыт, а именно гентамицина, цефазолина, бензилпенициллина, тетрациклина и линкомицина. Штаммы *L. plantarum* «V» №22, *L. acidophilus* №31Sd и *L. acidophilus* №28 обладают высокой антагонистической активностью по отношению к условно патогенным бактериям и являются перспективными для создания пробиотиков.

Библиографический список:

1. Дементеева, С.Ю. История открытия антибиотиков // Клиническая антибиотикотерапия. - 2005. - № 1. - С. 39-40.
2. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: - М.: Высш. Школа, 1979.-455 с.
3. Мартынюк, С.Н. Антибиотикорезистентность микроорганизмов // Провизор. – 2006. - № 23. - С. 38-43.
4. Определитель бактерий Берджи. Пер. с англ. (под ред. Дж. Хоулта, И. Лед, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса). – Москва, Мир. – 1997. – Т. 1,2. – 432 с.

THE STUDY OF THE PROPERTIES OF PROBIOTIC MICROFLORA ISOLATED FROM THE INTESTINAL TRACT OF CLINICALLY HEALTHY CATS

Bordyugova S.S., Zaitseva A.A., Atamanyuk A.A.

Key words: *antibiotic, lactobacillus, bifidobacteria, sensitivity, antagonistic activity.*

The article contains data on the properties of microorganisms isolated from the intestinal tract of clinically healthy cats. The sensitivity of lactobacilli and bifidobacteria to antibacterial drugs and antagonistic activity with respect to opportunistic microorganisms have been established.