

УДК: 636.579.62.576.524
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.251

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛАКТОБАКТЕРИЙ ПРОБИОТИЧЕСКОГО БИОКОМПЛЕКСА «АВИБИОЛАКТ»

Овчарова Е.С. * – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр., зав. отделом бактериологии (ORCID 00009-0006-1690-003X); **Маслов Д.В.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела бактериологии (ORCID 0009-0005-1371-6272); **Новикова А.Ф.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела бактериологии (ORCID 0009-0006-6267-9217)

«Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»

*ovcharova_el@bk.ru

Ключевые слова: антагонистическая активность, лактобактерии, пробиотики, патогенная и условно-патогенная микрофлора, тест-микроорганизмы

Key words: antagonistic activity, lactobacilli, probiotics, pathogenic and opportunistic microflora, test-microorganisms.

Поступила: 01.11.2024

Принята к публикации: 02.12.2024

Опубликована онлайн: 16.12.2024



РЕФЕРАТ

В настоящее время, актуальным способом коррекции и поддержания баланса кишечной микрофлоры птиц является применение пробиотиков - биопрепаратов, созданных на основе живых микробных культур. Особый интерес для профилактики желудочно-кишечных болезней птиц представляют пробиотики на основе лактобактерий с высокой антагонистической способностью, которая определяет их практическое применение в птицеводстве. Введение в рацион птиц пробиотиков с первых дней жизни стабилизирует микрофлору желудочно-кишечного тракта и улучшает физиологические процессы, что способствует повышению сохранности и увеличению продуктивности птиц. В статье представлены данные сравнительного изучения антагонистической активности пробиотического биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и отдельных культур лактобактерий, входящих в состав данного биопрепарата - *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*. В качестве тест-культур использовали изоляты патогенных и условно-патогенных микроорганизмов из коллекции музея рабочих культур отдела бактериологии ВНИВИП: *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Настоящими исследованиями подтверждена антагонистическая эффективность биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» в отношении условно-патогенных и патогенных тест-микроорганизмов. Наибольшей антагонистической активностью в отношении тест-микроорганизмов обладал пробиотический биокомплекс

«АВИБИОЛАКТ». Он образовывал зону задержки роста от 16,4 до 19,6 мм в зависимости от тест-штамма. Так зона задержки роста *Staphylococcus aureus* составляла 19,6 мм, *Escherichia coli* и *Salmonella enteritidis* - 19,3 и 18,8 мм соответственно, а *Pseudomonas aeruginosa* – 16,1 мм. Установлено, что уровень антимикробной активности в отношении тест-микроорганизмов - *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. был выражен в большей степени у биокомплекса «АВИБИОЛАКТ». У отдельных культур лактобактерий исследуемого пробиотического биокомплекса, антагонистическая способность была менее выражена. Наибольшей антагонистической активностью среди отдельных культур лактобактерий обладал *Lactobacillus acidophilus*.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В птицеводстве промышленного типа болезни желудочно-кишечного тракта бактериальной этиологии занимают одно из ведущих мест и являются главной причиной гибели молодняка птицы.

Нормальная микрофлора желудочно-кишечного тракта является важным звеном в жизнедеятельности птиц [1]. Она выполняет такие незаменимые функции как переваривание кормов, стимуляцию иммунной системы, защиту организма от патогенной микрофлоры и другие [2]. Исключительно важными качествами полезной микрофлоры кишечника является способность к колонизации и антагонистическая активность в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

В настоящее время, актуальным способом коррекции и поддержания баланса кишечной микрофлоры птиц является применение пробиотиков - биопрепаратов, созданных на основе живых микробных культур. Особый интерес для профилактики желудочно-кишечных болезней птиц представляют пробиотики на основе лактобактерий с высокой антагонистической способностью, которая определяет их практическое применение в птицеводстве [3]. Лактобактерии продуцируют антагонистические компоненты, такие как молочная кислота, бактериоцины, перекись водорода, лизоцим и другие вещества с бактерицидным действием, которые ингибируют рост условно-патогенной и патогенной микрофлоры кишечника [4, 5]. Введение в рацион птиц пробиотиков с первых дней жизни стабилизирует микрофлору желудочно-кишечного тракта и улучшает физиологи-

ческие процессы, что способствует повышению сохранности и увеличению продуктивности птиц [6].

Целью исследования являлось изучение антагонистической активности пробиотического биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и отдельных монокультур лактобактерий, входящих в его состав, в отношении условно-патогенных и патогенных тест-культур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

При определении антагонистической способности исследуемых пробиотических лактобактерий использовали методом лунок. Для проведения опыта использовали комплекс пробиотических лактобактерий биопрепарата «АВИБИОЛАКТ» и монокультуры лактобактерий, входящих в его состав: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*. Устанавливали наличие и степень выраженности антагонистической активности у данных культур лактобактерий в отношении патогенных и условно-патогенных тест-микроорганизмов - *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Для исследования использовали свежеприготовленный пробиотический биокомплекс «АВИБИОЛАКТ» в жидкой форме.

Монокультуры лактобактерий, перед проведением исследования, трехкратно культивировали на обезжиренной жидкой молочной среде. Ацидофильную палочку инкубировали в течении 48 часов при 37 °С, в анаэробных условиях, с использованием анаэростана и газогенерирующих пакетов «КАМПИЛОГАЗ» с содержанием

CO₂ 8-10%, сливочный лактококк и молочный стрептококк культивировали в термостате при 30°C в течении 48 часов в аэробных условиях. Затем проводили культивирование, данных микроорганизмов, на поверхности MRS агара в тех же условиях.

У изолированных колоний, типичных для каждой культуры лактобактерий, выросших на MRS-агаре подтверждали культурально-морфологические, тинкториальные и биохимические свойства. Затем повторно переседали на MRS-агар газоном. Через 48 часов культуры смывали стерильным физиологическим раствором, готовили суспензию микробных клеток в концентрации $5,2-5,8 \times 10^9$ КОЕ/см³.

В качестве тест-культур использовали изоляты патогенных и условно-патогенных микроорганизмов из коллекции музея рабочих культур отдела бактериологии ВНИВИП: *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Перед проведением эксперимента все тест-микроорганизмы освежали и подтверждали их культуральные, тинкториальные, морфологические и биохимические свойства. Из отдельно взятых колоний суточного роста готовили суспензию на физиологическом растворе в концентрации микробных клеток: *Salmonella enteritidis* – $3,5 \times 10^9$ КОЕ/см³, *Staphylococcus aureus* – $6,4 \times 10^9$ КОЕ/см³, *Escherichia coli* – $5,8 \times 10^9$ КОЕ/см³, *Pseudomonas aeruginosa* – $3,1 \times 10^9$ КОЕ/см³. Подготовленную суспензию в объеме 1 см³ добавляли в расплавленный и остуженный МПА в чашку Петри. После застывания агара в нем вырезали лунки диаметром 5 мм. Для предупреждения подтекания микробной суспензии под агар, на дно лунки вносили по 1 капле расплавленного мясопептонного агара. В каждую лунку вносили по 0,2 мл взвеси культуральной жидкости лактобактерий – один вид тест-культуры на чашку с одним видом лактобактерии в три лунки - 1, 2, 3. Контролем на каждой чашке служила лунка, заполненная стерильным физиологическим раствором. Чашки Петри термостатировали при оп-

тимальной температуре в течении 24-48 ч. Зону задержки роста тест-культур вокруг лунок фиксировали штангенциркулем в мм. Числовые данные обрабатывали статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Важным критерием оценки эффективности применения пробиотических штаммов лактобактерий является уровень их антагонистической активности по отношению к условно-патогенной и патогенной микрофлоре.

Результаты изучения антагонистической активности биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и отдельных культур лактобактерий, входящих в его состав, в отношении тест-культур представлены в табл.1 и рис.1.

Данные таблицы 1 и рисунка 1 свидетельствуют, что наибольшей антагонистической активностью в отношении тест-микроорганизмов обладал пробиотический биокомплекс «АВИБИОЛАКТ». Он образовывал зону задержки роста от 16,4 до 19,6 мм в зависимости от тест-штамма. Так зона задержки роста *Staphylococcus aureus* составляла 19,6 мм, *Escherichia coli* и *Salmonella enteritidis* - 19,3 и 18,8 мм соответственно, а *Pseudomonas aeruginosa* – 16,1 мм.

При раздельном культивировании лактобактерий биокомплекса было установлено, что все штаммы пробиотических микроорганизмов обладали антибактериальным эффектом в отношении тест-культур, но в разной степени выраженности. Зоны задержки роста тест-культур по отношению к отдельным штаммам исследуемых лактобактерий были менее выражены, чем у пробиотического биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и находились в пределах от 15,3 до 19,0 мм. Наиболее значимые показатели были определены в отношении штамма *Lactobacillus acidophilus*, где уровень зоны задержки роста к патогенным культурам *Escherichia coli* и *Salmonella enteritidis* составлял 18,7 и 17,9 мм соответственно, а к *Staphylococcus aureus* этот показатель был выше и составил 19,0 мм. Самая низкая величина зоны задержки роста была выявлена в отноше-

нии *Pseudomonas aeruginosa* и составила 16,1 мм. У штаммов *Lactococcus cremoris* и *Lactococcus lactis* были выявлены следующие показатели антагонистической активности: зона задержки роста *Escherichia coli* составляла 18,1 и 17,5 мм соответственно; *Salmonella enteritidis* - 17,2 и 16,8 мм, а *Staphylococcus aureus* - 18,6 и 18,3 мм соответственно. Самый низкий показатель наблюдался у *Pseudomonas aeruginosa* – 15,8 и 15,3 мм соответственно.

Анализ полученных данных изучения антагонистической активности биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и монокультур лактобактерий, входящих в его состав, свидетельствует о том, что биокомплекс «АВИБИОЛАКТ» и все исследуемые штаммы лактобактерий обладали выраженной антагонистической активностью по отношению к тест-культурам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Таблица 1 – Результаты антагонистической активности биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и входящих в его состав лактобактерий в отношении тест-культур

Патогенные и условно-патогенные тест-штаммы	Диаметр задержки роста, мм (M±m)			
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Lactococcus cremoris</i>	биокомплекс «АВИБИОЛАКТ»
<i>Escherichia coli</i>	18,7±0,9	17,5±0,7	18,1±2,3	19,3±1,2
<i>Salmonella enteritidis</i>	17,9±1,5	16,8±2,1	17,2±1,6	18,8±1,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	19,0±1,1	18,3±2,4	18,6±2,8	19,6±2,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16,1±0,5	15,3±1,2	15,8±0,4	16,4±0,8

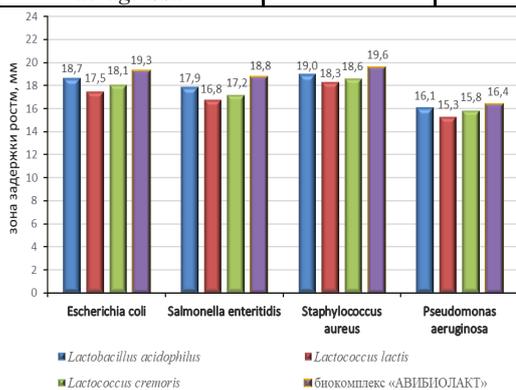


Рисунок 1 – Антагонистическая активность лактобактерий к тест-микроорганизмам.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При раздельном культивировании лактобактерий биокомплекса было установлено, что все штаммы пробиотических микроорганизмов обладали антибактериальным эффектом в отношении тест-культур, но в разной степени выраженности. Проведёнными исследованиями было установлено выраженное антагонистическое действие пробиотического биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и отдельных

лактобактерий, входящих в его состав в отношении изучаемых тест-микроорганизмов. Антимикробная активность биокомплекса была выше, чем у монокультур лактобактерий.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLI OF THE PROBIOTIC BIOCOMPLEX «AVIBIOLACT»

Ovcharova E.S. * – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher – Head of the Department of Bacteriology (ORCID 00009-0006-1690-003X); **Maslov D.V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher at the Department of Bacteriology (ORCID 0009-0005-1371-6272); **Novikova A.F.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher at the Department of Bacteriology (ORCID 0009-0006-6267-9217).

«All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science» — Branch of the Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center “All-Russian Research and Technological Poultry Institute”

*ovcharova_el@bk.ru

ABSTRACT

Currently, the current method of correction and maintenance of the balance of intestinal microflora of birds is the use of probiotics - biopreparations created on the basis of live microbial cultures. Of particular interest for the prevention of gastrointestinal diseases of birds are probiotics based on lactobacilli with high antagonistic ability, which determines their practical application in poultry farming. The introduction of probiotics into the diet of birds from the first days of life stabilizes the microflora of the gastrointestinal tract and improves physiological processes, which contributes to increased safety and increased productivity of birds. The article presents data from a comparative study of the antagonistic activity of the probiotic biocomplex "AVIBIOLAKT" and individual cultures of lactobacilli included in this biopreparation - *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*. Isolates of pathogenic and opportunistic microorganisms from the collection of the Museum of Working Cultures of the Bacteriology Department of the All-Russian Research Institute of Vitiligo and Infectious Diseases were used as test cultures: *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. The present studies have confirmed the antagonistic efficiency of the biocomplex

"AVIBIOLAKT" in relation to opportunistic and pathogenic test microorganisms. The probiotic biocomplex "AVIBIOLAKT" had the highest antagonistic activity in relation to test microorganisms. It formed a growth inhibition zone from 16.4 to 19.6 mm depending on the test strain. Thus, the growth inhibition zone of *Staphylococcus aureus* was 19.6 mm, *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis* - 19.3 and 18.8 mm, respectively, and *Pseudomonas aeruginosa* - 16.1 mm. It was established that the level of antimicrobial activity against test microorganisms - *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. was expressed to a greater extent in the biocomplex "AVIBIOLAKT". In individual cultures of lactobacilli of the studied probiotic biocomplex, the antagonistic ability was less pronounced. *Lactobacillus acidophilus* had the greatest antagonistic activity among individual cultures of lactobacilli.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1.Скворцова, Л. Н. Функции микрофлоры желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственной птицы / Л. Н. Скворцова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – № 161. – С. 44-51. - DOI 10.21515/1990-4665-161-005.
- 2.Фисинин, В. И. Кишечный иммунитет у птиц: факты и размышления (обзор) / В. И. Фисинин, П. Сурай // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – Т. 48, № 4. – С. 3-25.
- 3.Гиндуллин, А. И. Возможности применения пробиотиков на основе лактобактерий в птицеводстве / А. И. Гиндуллин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2013. – Т. 215. – С. 74-77.
- 4.Овчарова, А. Н. Новые пробиотические препараты на основе *Lactobacillus reuteri* и перспективы использования их в животноводстве / А. Н. Овчарова, Е. С. Петраков // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2018. – № 2. – С. 5-18.
- 5.Абдуллаева, Н. Ф. Микробиологические

и биохимические характеристики молочнокислых бактерий и области их применения (обзор) / Н. Ф. Абдуллаева, З. А. Тагизаде, Р. С. Мустафаева // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2017. – № 3-3. – С. 31-35.

6. Кононенко, С. И. Повышение биологического потенциала птицы за счет использования пробиотиков / С. И. Кононенко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2017. – № 127. – С. 527-545. – DOI 10.21515/1990-4665-127-036.

REFERENCES

1. Skvortsova, L. N. Functions of the microflora of the gastrointestinal tract of agricultural poultry / L. N. Skvortsova // Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University. – 2020. – No. 161. – P. 44-51. – DOI 10.21515/1990-4665-161-005.

2. Fisinin, V. I. Intestinal immunity in birds: facts and reflections (review) / V. I. Fisinin, P. Surai // Agricultural biology. – 2013. – T. 48, No. 4. – P. 3-25.

3. Gindullin, A. I. Possibilities of using probiotics based on lactobacilli in poultry farming / A. I. Gindullin // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after. N.E. Bauman. – 2013. – T. 215. – P. 74-77.

4. Ovcharova, A. N. New probiotic preparations based on *Lactobacillus reuteri* and prospects for their use in animal husbandry / A. N. Ovcharova, E. S. Petrakov // Problems of biology of productive animals. – 2018. – No. 2. – P. 5-18.

5. Abdullaeva, N. F. Microbiological and biochemical characteristics of lactic acid bacteria and their areas of application (review) / N. F. Abdullaeva, Z. A. Tagizade, R. S. Mustafaeva // Current problems of the humanities and natural sciences. – 2017. – No. 3-3. – pp. 31-35.

6. Kononenko, S. I. Increasing the biological potential of poultry through the use of probiotics / S. I. Kononenko // Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University. – 2017. – No. 127. – P. 527-545. – DOI 10.21515/1990-4665-127-036.