

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ *BACILLUS* SPP. ЩОДО ПРЕДСТАВНИКІВ КИШКОВОЇ МІКРОБІОТИ *IN VITRO*

Білокінь П.Ю.¹, Урженко Ю.С.², Білан М.В.²

¹Дніпропетровське відділення МАН України, м. Дніпро, Україна

²Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Вступ. Бактерії роду *Bacillus* відіграють важливу роль у природних екосистемах, а також знаходять широке застосування у медицині та агротехнологіях завдяки своїм антагоністичним властивостям. Цей рід бактерій включає численні види, серед яких *Bacillus subtilis* та *Bacillus cereus* виділяються своєю здатністю демонструвати виражену антагоністичну дію щодо різноманітних патогенних мікроорганізмів. Відомо, що *B. subtilis* є важливим компонентом пробіотиків, який використовуються для поліпшення здоров'я кишківника, а *B. cereus* часто вивчається через його патогенні властивості та здатність викликати харчові отруєння. Розуміння специфіки дії різних видів бактерій на мікробіоту може відкрити нові горизонти для розробки пробіотичних препаратів та методів боротьби з інфекційними захворюваннями.

Метою даного дослідження було порівняти антагоністичну активність *Bacillus subtilis* та *Bacillus cereus* щодо представників кишкової мікробіоти *in vitro*.

Матеріали та методи. Дослідження проводили в умовах лабораторії кафедри інфекційних хвороб тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету з дотриманням вимог техніки безпеки та правил асептики.

Застосовували референс-штами мікроорганізмів – *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25923 і 25922, *Proteus vulgaris* НХ 19222, *Staphylococcus aureus* UNCSM-017, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* K-56 №3534/51. Інші – представники кишкової мікробіоти лабораторних тварин, зокрема лактобактерії та гриби роду *Candida*.

B. cereus і *B. subtilis* порівнювали за здатністю до росту на різних живильних середовищах, за різних температурних режимів, за здатністю ферментувати цукри та за рухливістю (визначали за допомогою класичних мікробіологічних методик).

Лактобактерії ідентифікували на основі морфологічних характеристик, культуральних ознак (зокрема, на лактобакагарі) та біохімічних властивостей із використанням середовищ Блікфельдта та Гісса згідно з визначником Бергі.

Видову належність грибів роду *Candida* встановлювали за допомогою готового хромогенного середовища Biolife Italiana S.r.l. (Італія).

Антагоністичну активність *B. cereus* і *B. subtilis* оцінювали диско-дифузійним методом на живильних середовищах, засіяних культурами кишкової мікрофлори. Як контроль використовували стандартні антибіотичні диски: амоксицилін (10 мкг) та флуконазол (25 мкг).

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програмного забезпечення Statistica 8.0. Аналіз включав розрахунок середнього значення та стандартного відхилення ($\bar{x} \pm SD$). Застосовували тест Тьюкі з поправкою Бонферроні. Вірогідними вважали результати при значенні $P < 0,05$.

Результати. Встановлено, що *B. subtilis* та *B. cereus* мають відмінні морфологічні ознаки та біохімічні властивості: клітини *B. cereus* були крупнішими та товщими, ніж *B. subtilis*. *Bacillus subtilis* росла на м'ясо-пептонному бульйоні за 50°C, інтенсивно рухалася, проявляла ріст на сольовому м'ясо-пептонному агарі, розщеплювала глюкозу з утворенням кислоти та газу і частково розщеплювала маніт з утворенням газу. *B. cereus* не росла за 50°C, рухалася повільно, частково розщеплювала маніт з утворенням газу та повністю розщеплювала глюкозу з утворенням газу. Обидві культури не росли за 5°C.

Ідентифіковано лактобактерії: *Lactobacillus casei* та *Lactobacillus salivarius*. *Lactobacillus casei subsp. tolerans* – циліндричної форми грампозитивні, розташовані окремо або в коротких ланцюжках палички, які ферментували глюкозу, манітол та сахарозу, але не розкладав лактозу, мальтозу, сорбіт. У той час *Lactobacillus salivarius* довші й тонші грампозитивні палички, які розташовувались окремо або ланцюжками, ферментували глюкозу та лактозу, але не розкладали сорбіт, лактозу, сахарозу і маніт.

Дріжджеподібні гриби на хромогенному живильному середовищі росли протягом 48 годин та відрізнялися кольором колоній. Під світловим мікроскопом на середньому збільшенні спостерігали різні за морфологією клітини. Виділено штами *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* та *Candida krusei*.

B. subtilis ATCC No 6633 були найбільш ефективними проти *Enterobacter aerogenes* та *Staphylococcus aureus* (зона затримки росту $12,4 \pm 0,44$ та $11,8 \pm 0,64$ мм відповідно), але проявляли меншу ефективність проти *Proteus vulgaris* та *Lactobacillus spp.* *Bacillus cereus* ATCC 9634 виявляли високу антагоністичну активність проти *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* та *Enterococcus faecalis* (зона затримки росту $10,46 \pm 0,63$; $16,10 \pm 0,52$; $10,20 \pm 0,44$ та $11,60 \pm 0,72$ мм відповідно), але були менш ефективними проти *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*. *B. subtilis* та *B. cereus* не впливали на *Lactobacillus spp.*, тому їх можна розглядати у якості потенційних компонентів комплексних пробіотиків за дисбіозів.

Відносно дріжджеподібних грибів, *Bacillus subtilis* та *Bacillus cereus* проявляли значну антагоністичну активність проти *Candida glabrata* ($10,6 \pm 0,88$ – $12,8 \pm 0,64$ мм та $10,8 \pm 0,64$ мм відповідно), але мали обмежену ефективність проти *Candida tropicalis* ($6,60 \pm 0,48$ та $6,80 \pm 0,64$) та *Candida krusei* ($6,40 \pm 0,48$ – $7,60 \pm 0,48$ та $6,00 \pm 0,31$ – $6,40 \pm 0,48$).

Висновок. У ході дослідження встановлено, що *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) та *Bacillus cereus* (ATCC 9634) відрізняються за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями, а також за рівнем антагоністичної активності щодо низки умовно-патогенних мікроорганізмів. Обидва штами не чинили інгібуючого впливу на *Lactobacillus spp.*, що дозволяє розглядати їх як перспективні компоненти комплексних пробіотичних засобів для нормалізації мікробіоти при дисбіозах. Водночас обидва штами виявили помірну антагоністичну активність проти дріжджеподібних грибів, зокрема *Candida glabrata*, але були менш ефективними проти *C. tropicalis* і *C. krusei*. Ідентифіковані штами лактобактерій та дріжджів можуть бути використані як моделі для подальшого вивчення пробіотичних взаємодій. Отримані дані підтверджують доцільність використання *B. subtilis* і *B. cereus* як біоконтрольних агентів із селективною антимікробною дією.

ДИНАМІКА КИШКОВОЇ МІКРОБІОТИ ЗА ІДІОПАТИЧНОЇ ЕПІЛПСІЇ У СОБАК

Богдан А.А., Сулова Н.І.

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна
Bogdan.an2000@Gmail.com, Suslova@ua.fm

Вступ. Мікробіота кишечника відіграє вирішальну роль у модулюванні різних фізіологічних і патологічних процесів через свої метаболіти, включаючи коротколанцюгові жирні кислоти (SCFA), які впливають на розвиток імунної системи, здоров'я шлунково-кишкового тракту та функції мозку через кишково-мозкову вісь. [1,2] Дисбактеріоз, дисбаланс у складі кишкової мікробіоти, був пов'язаний із нейрозапальними та