

УДК 619:618.19–002:636.2–08

Л. М. БОРОДИЧ¹, А. А. БОГУШ¹, Т. И. ДЫМАР², Л. В. САФРОНЕНКО², Н. В. ДУДКО²

**АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И СТАБИЛЬНОСТЬ ЛАКТОБАКТЕРИЙ
И СОЗДАНЫХ НА ИХ ОСНОВЕ КОМПОЗИЦИЙ
ПРОТИВОМАСТИТНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ КОРОВ**

¹Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеселского,

²Институт мясо-молочной промышленности

(Поступила в редакцию 08.07.2008)

Наиболее распространенным и экономически значимым заболеванием коров является мастит (*Mastitis*). Воспалительные процессы в вымени коров имеют широкое распространение во всех странах с развитым молочным скотоводством. Установлено, что в течение года маститом переболевает более 70% маточного поголовья. При разовых обследованиях положительно реагируют на маститный тест 5–35% коров. Ущерб, наносимый маститами, весьма значительный. За период болезни и после выздоровления молочная продуктивность коров снижается при субклинических маститах на 10–15%, а при клинических – до 35% за лактацию. Из-за необратимых изменений в вымени даже при успешном лечении прежние удои коров в ряде случаев полностью не восстанавливаются. В среднем 10–15% переболевших клиническим маститом коров выбраковывается по причине атрофии четвертой вымени, а среди высокопродуктивных животных этот показатель в 2 раза выше. Большие убытки терпят молокоперерабатывающие предприятия, так как примесь 10% и более молока от больных скрытым маститом коров делает сырье малопригодным для переработки в кисломолочные продукты и сыры [1].

Воспалительный процесс в молочной железе развивается, как правило, в ответ на действие неблагоприятных биологических, физических и химических факторов внешней среды. В большинстве случаев непосредственной причиной возникновения мастита у коров является проникновение и развитие в тканях молочной железы патогенной и потенциально патогенной микрофлоры, преимущественно золотистого стафилококка, агалактийного и дисгалактийного стрептококка, реже – эпидермального и стрептококка, эшерихий, а также других видов бактерий (микоплазм, микроскопических грибов, вирусов и др.), изолируемых из молока (секрета) преимущественно в виде различных ассоциаций. Молочная железа инфицируется, как правило, галактогенно – через сосковый канал, который после доения в течение 1–2 ч остается открытым, а местная противомикробная защита оказывается сниженной. Значительно реже микрофлора в молочную железу проникает лимфогенным и гематогенным путем [2–4].

Известно множество способов лечения мастита у коров, предусматривающих физические методы (низкоинтенсивное лазерное излучение), этиотропные методы (использование химиотерапевтических препаратов), а также патогенетическую терапию (внутриорбитальное введение новокаина по Д. Д. Логвинову). Широко применяются для лечения антибиотики, фитонциды, сульфаниламидные и нитрофурановые препараты отдельно или в различных сочетаниях. Однако при лечении лактирующих коров этими препаратами необходимо проводить строгую выбраковку молока в течение 3–5 и более дней [1].

Основной проблемой последних лет является широкое распространение резистентных форм патогенных микроорганизмов и снижение терапевтической эффективности ряда антибиотиков. Ввиду чего перспективной представляется работа по двум направлениям: изыскание эффективных экологически чистых средств, стимулирующих защитные механизмы молочной железы от проникновения

микрофлоры и развития в ней воспалительных процессов, и малотоксичных терапевтических противомикробных препаратов, разработанных с учетом чувствительности к их компонентам микрофлоры, вызывающей мастит. Фундаментальные исследования современной биологической и медицинской науки позволили разработать и внедрить в практику новый класс препаратов – пробиотики.

Пробиотики – биологические препараты, содержащие живые или убитые микроорганизмы и продукты их ферментации. Эти экологически безвредные препараты не влияют на качество продукции, обладают широкой гаммой позитивных фармакологических эффектов [5, 6]. Пробиотические препараты довольно широко применяются с превентивной и лечебной целью при различных патологиях организма. Для лечения субклинического мастита разработан ряд пробиотических препаратов. Например, *биосан-СВ*, разработанный А. И. Варгановым в 1994 г., подавляет рост кишечной палочки (в желудочно-кишечном тракте телят и вне организма на плотных питательных средах), угнетает рост стафилококков и стрептококков, оказывает незначительное раздражающее действие на ткани молочной железы, стимулирует иммунитет. Выздоровление коров, больных субклиническим маститом, наступает после 3–4 интрацестернальных введений препарата в 85,7% случаев. Разработанный В. В. Подберезным и др. *эндобактерин* при однократном интрацестернальном введении оказался недостаточно эффективным – излечено 41,6% пораженных долей. *Зимун-3.22*, разработанный О. Б. Павленко и др. в 2004 г., обладает высокой антагонистической активностью по отношению к широкому спектру условнопатогенных и патогенных микроорганизмов, в том числе и устойчивых к антибиотикам; вводится однократно, интрацестернально в дозе 0,5 г сухого вещества, растворенного в 5,0 см³ изотонического раствора натрия хлорида; лечебный эффект составляет 70,0–75,0%. Для практики предлагают также другие пробиотические препараты: АБК, АПИНИК, бифидумбактерин ветеринарный, лакком, лактицид, споробактерин, Саратовская-3, фагосан, бифинорм, Ветом-1.1, Зимун 14.40, иммунолак, лактоферон, спорофит, субалин и др.

Антагонистическая активность пробиотических микроорганизмов обусловлена действием неспецифических и специфических факторов. К неспецифическим факторам относятся: образование молочной, уксусной и других кислот, создание низкого окислительно-восстановительного потенциала за счет утилизации кислорода; конкуренция за питательные вещества. Специфическими факторами являются: образование антибиотикоподобных веществ полипептидной или неидентифицированной природы, бактериоцинов, жирных кислот с короткой цепью. Имеются данные, что штаммы, относящиеся к одному виду, могут отличаться друг от друга по антагонистической активности [7].

Эпоха изучения веществ с антибиотикоподобным эффектом, отличающихся от антибиотиков белковой (пептидной) составляющей и названных J. Jacob и др. *бактериоцинами* (БЦ), началась с 1925 г. после их открытия А. Gratia. Исследования разных групп бактерий позволили выявить, а затем классифицировать бактериоцины, обладающие разнонаправленным действием на клетки прокариотов и эукариотов. Недостаточно изученные субстанции рекомендуется называть бактериоциноподобными (БЦП). Использование оригинальных биотехнологий позволило создать препараты БЦ и БЦП с биологической активностью в отношении бактерий и макроорганизма, например, низин, стафилококцин, томицид и др. Помимо антибактериального действия БЦ, БЦП и нативных культур молочнокислых микроорганизмов установлена их умеренная противоопухолевая и противовирусная активность, которая основана на способности модулировать эффект, создаваемый комплексом антиген-антитело, бактериофагом, токсином [5, 7–9].

Данные, полученные Н. Н. Говриловой и И. А. Растниковой в 2007 г., свидетельствуют о том, что некоторые штаммы лактобактерий обладают широким спектром антимикробного действия и проявляют свою антагонистическую активность к возбудителям внекишечной инфекции: *Vibrio cholerae*, *Bacillus anthracis*, *Pasterella multocida*, *Listeria spiralis*, *Brucella suis*, *Mycobacterium B-5*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. Многие исследователи утверждают, что штаммы молочнокислых микроорганизмов (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus acidophilus*) помимо антимикробных веществ белковой природы (низин и лактоцидин, диплококцин, ацидолин, лактобациллин, болгарин, ацидофилин) вырабатывают также основные классы

биосурфактантов (нейтральные липиды, фосфолипиды и гликолипиды), аминокислоты, ферменты, лизоцим, молочную кислоту [5, 9]. Имеются данные о способности молочнокислых бактерий синтезировать бактериоцины, которые облегчают выживание штаммов-продуцентов в условиях смешанных популяций [7].

Механизм действия бактериоцинов в одних случаях заключается в воздействии на энергозависимые синтезы и ингибирование транспортных процессов; изменение проницаемости клеточной мембраны для ионов калия, магния и кобальта; снижении уровня АТФ; снятии трансмембранного электрохимического потенциала или исчезновении специфических мембранных белков. В других случаях бактериоцины вызывают деградацию ДНК, нарушая синтез РНК, ингибируют синтез белка. Максимальное накопление бактериоцинов происходит в конце экспоненциальной фазы роста. Это свойство давно интересует ученых, но до сих пор не полностью раскрыты все механизмы и факторы, влияющие на антагонистическую активность бактерий, в частности на синтез антибиотиков.

Многолетние клинические наблюдения за лечебной и профилактической эффективностью пробиотиков показали, что они практически не обладают побочными эффектами при длительном их применении [7].

Для создания пробиотических композиций необходимо отбирать штаммы пробиотических бактерий, обладающих выраженной антагонистической активностью к определенным патогенным и условно патогенным микроорганизмам.

Учитывая механизм действия молочнокислых микроорганизмов, который заключается в подавлении жизнедеятельности патогенных микроорганизмов и конкурентном вытеснении условно-патогенных и других нефизиологических бактерий [5], были проведены исследования по изучению антагонистических и антибактериальных свойств коллекционных штаммов молочнокислых микроорганизмов, находящихся в собственности отдела микробиологии Института мясо-молочной промышленности, к основным возбудителям мастита у коров (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*) [10]. На основании полученных данных были выявлены 3 активно действующих штамма лактобактерий. Штаммы проверены на антагонизм по отношению друг к другу, и на основании полученных результатов из них были сконструированы 6 опытных образцов препарата: 3 – моно- (содержащие один штамм молочнокислого микроорганизма) и 3 – полипрепараты (содержащие в своем составе два и три штамма молочнокислых микроорганизмов). Все композиции препарата представляют собой выращенные на молочной сыворотке и смешанные в оптимальном соотношении молочнокислые микроорганизмы. По физико-химическим показателям все композиции представляют собой прозрачную, слегка опалесцирующую жидкость, светло-желтого цвета, с легко разбивающимся осадком, слабого специфического запаха, легко растворимую в воде, рН 4,0–6,5.

Цель настоящих исследований – изучение антагонизма лактобактерий при их совместном культивировании, антимикробной активности композиций пробиотического препарата к основным возбудителям мастита, а также определение антибактериальных свойств и количества колонеобразующих единиц (КОЕ) в композициях препарата в процессе хранения.

Материалы и методы исследований. Стабильность композиций препарата изучали в следующие сроки: свежеприготовленные, спустя 15 сут, затем через 30, 45, 60 дней и ежемесячно в течение 7 мес.

Исследования по определению антибактериальной активности композиций пробиотического препарата проводили в условиях отдела патологии размножения Института экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелеского с декабря 2007 г. по июль 2008 г. по методу диффузии в агар с использованием лунок [11, 12]: в чашки Петри заливали 15 мл 4%-ного МПА, оставляли для застывания на 30–40 мин; затем на поверхность застывшего агара заливали 10 мл 1,2–1,6% (мягкого) мясо-пептонного агара, содержащего бактериальную взвесь патогенного микроорганизма (тест-штамма). Для приготовления взвеси микроорганизмов в 1,2%-ном агаре первоначально готовили взвесь тестируемого штамма в физиологическом растворе с применением оптического стандарта мутности в 10 млрд, брали по 0,1 мл содержимого и вносили в 1,2%-ный подогретый до 50° С агар. После нанесения 1,2%-ного агара с тест-организмом на плотный агар чашки на 30 мин

оставляли для застывания, затем стерильным металлическим лункорезом делали луночки в агаре на расстоянии 2 см от края чашки (по 4 лунки в каждой чашке), после чего в лунки вносили испытуемые композиции пробиотического препарата в количестве 0,1 см³. В таком виде чашки выдерживали в течение 2 ч при комнатной температуре, затем помещали в термостат при 37 °С. Результат учитывали через 24 ч инкубации, при этом определяли диаметр зоны задержки роста тестируемого микроорганизма вокруг лунки, включая размер лунки (8 мм): задержки роста нет – микроорганизмы устойчивы к данному препарату; задержка роста до 15 мм – микроорганизмы малочувствительны; задержка роста от 15 до 25 мм – чувствительны; задержка роста более 25 мм – микроорганизмы высокочувствительны.

Контролем роста патогенных микроорганизмов служил их посев в стерильные чашки Петри на МПА с последующей постановкой их в термостат вместе с опытными чашками, а контролем стерильности агара являлись чашки со стерильным агаром.

Определение количества КОЕ лактобактерий в композициях препарата проводили согласно ГОСТ 10444.11–89 [13] в отделе микробиологии Института мясо-молочной промышленности с декабря 2007 г. по июль 2008 г. Для этого брали 1 см³ препарата и вносили в 9 см³ стерильного физиологического раствора, получая таким образом первое разведение. Из полученного первого разведения делали последующие, до 10-го включительно. Из трех-четырех последних разведений продукта в физиологическом растворе брали по 1 см³ и вносили в два параллельные ряда пробирок с 1,5%-ной питательной средой MRS и тщательно перемешивали движением пипетки снизу вверх максимально осторожно, чтобы исключить насыщение кислородом. Посевы инкубировали в термостате при температуре (37±1) °С в течение 2–5 сут до появления характерных для лактобактерий колоний. Обработку результатов проводили путем подсчета количества клеток лактобактерий в 1 см³ и умножения числа выросших колоний на соответствующее разведение. За окончательный результат анализа принимали среднее арифметическое результатов, полученных в 2 параллельных посевах. При вычислении использовали следующую формулу:

$$N = P / (n_1 + 0,1n_2)d,$$

где N – КОЕ молочнокислых микроорганизмов; P – сумма подсчитанных колоний в 2 последних параллельных посевах; n_1 – количество колоний молочнокислых микроорганизмов, подсчитанных при низком разведении; n_2 – количество колоний молочнокислых микроорганизмов, подсчитанных в пробирках с самым высоким разведением; 0,1 – количество мл засеянных из меньшего разведения; d – наименьшее разведение.

Антагонизм молочнокислых микроорганизмов между собой исследовали на плотной питательной среде. Для этого разогретую и остуженную до 40–45 °С среду MRS разливали в чашки Петри по 15–20 мл, на застывшую поверхность среды поперечным (по диаметру чашки Петри) штрихом (полоской) петлей диаметром 1 мм засеивали тестируемый штамм (антагонистические свойства которого необходимо проверить), выращенный в течение 24–72 ч в среде ПГС. Засеянные чашки Петри помещали в термостат при температуре 37 °С на 24–72 ч. По истечении этого срока к выросшей полоске исследуемой культуры перпендикулярными штрихами подсеивали культуры тех микробов, по отношению к которым ожидается проявление антагонистического действия (тест-микроб). Перпендикулярные полоски нигде не соприкасались с продольной и отступали от продольной на 1–2 мм. Чашки вновь ставили в термостат на сутки, после чего учитывали результат опыта по величине зоны отсутствия роста тест-микроба. Антагонистом считался тот исследуемый штамм, расстояние от продольной полоски которого до перпендикулярного штриха превышало 4 мм. Контролем роста тест-культуры служил их параллельный посев на чашки Петри с той же средой без испытуемой культуры.

Хранили композиции пробиотического препарата в холодильнике при температуре от + 2 до + 6 °С.

Результаты и их обсуждение. Исследования по определению антагонизма молочнокислых микроорганизмов показали, что *Lactobacillus plantarum* 25/1 и *Lactobacillus acidophilus* 12 не проявляют антагонизма при совместном культивировании на питательной среде (зона задержки роста 1мм), тогда как *Lactobacillus acidophilus* 12 и *Lactobacillus casei* 4/2 имели зону задержки от 3 до 8 мм (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Зоны задержки роста лактобактерий по отношению друг к другу, мм

Тестируемый штамм	<i>Lactobacillus casei</i> 4/2	<i>Lactobacillus plantarum</i> 25/1	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 12
<i>Lactobacillus casei</i> 4/2	–	1	3
<i>Lactobacillus plantarum</i> 25/1	4	–	1
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 12	8	3	–
Контроль среды	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует
Контроль роста микроорганизма	Обильный рост микроорганизма	Обильный рост микроорганизма	Обильный рост микроорганизма

П р и м е ч а н и е. Прочерк (–) означает отсутствие зоны задержки роста.

При хранении в холодильнике (2–4 °С) культура *Lactobacillus acidophilus* 12 в защитной среде сохраняла свою выраженную бактерицидную активность по отношению к *Escherichia coli* в течение 6 мес, к *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus faecalis* – в течение 2 мес. После этого зоны задержки постепенно снижались (табл. 2). Относительно стабильными оказались также культуры *Lactobacillus plantarum* 25/1, показавшие зоны задержки роста возбудителей мастита более 15 мм в течение 4–5 мес, и *Lactobacillus casei* 4/2 – в течение 2–5 мес.

Из созданных образцов пробиотического противомаститного препарата, содержащих 2 и 3 штамма молочнокислых микроорганизмов, наиболее активной по бактерицидным свойствам оказалась композиция из сочетания *Lactobacillus plantarum* 25/1 и *Lactobacillus acidophilus* 12 (в дальнейшем препарат «Лактосан»). Данная композиция проявляла зоны задержки роста возбудителей мастита (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*) более 15 мм в течение 6 мес, что свидетельствует о синергизме данных штаммов молочнокислых микроорганизмов. Композиция из сочетания *Lactobacillus plantarum* 25/1 и *Lactobacillus casei* 4/2 проявляла свою бактерицидную активность в отношении *Escherichia coli* и *Streptococcus faecalis* на протяжении 5 мес, зоны задержки роста патогенного микроорганизма при этом были более 15 мм, по отношению к *Staphylococcus aureus* бактерицидная активность данной композиции проявлялась на протяжении 2 мес, зона задержки роста золотистого стафилококка при этом составляла 22–18 мм. Композиция препарата, содержащая 3 вида лактобактерий (*Lactobacillus plantarum* 25/1, *Lactobacillus casei* 4/2, *Lactobacillus acidophilus* 12), проявляла свою бактерицидную активность по отношению к *Escherichia coli* в течение 6 мес, в отношении золотистого стафилококка активность композиции сохранялась 5 мес, к *Streptococcus faecalis* бактерицидное действие проявлялось на протяжении 3 мес (табл. 2).

Исследования, результаты которых приведены в табл. 3, показали, что штамм *Lactobacillus acidophilus* 12 (образец № 1) сохранял свою жизнеспособность (при 2–4 °С) в течение 2 мес, КОЕ данного штамма в препарате при этом составляло $6 \cdot 10^6$, в образце № 2 наибольшее КОЕ *Lactobacillus plantarum* 25/1 было выявлено спустя 30 дней со дня изготовления и составило $7 \cdot 10^8$, а по прошествии 7 мес хранения составило $3 \cdot 10^5$, КОЕ штамма *Lactobacillus casei* 4/2 в образце № 3 спустя 7 мес хранения – $6 \cdot 10^7$, в образце № 4 соотношение штаммов каждый месяц варьировало в допустимых пределах и оставалось на уровне 10^6 – 10^7 на протяжении 4 мес, но уже спустя 7 мес хранения *Lactobacillus casei* 4/2 не обнаруживался в препарате, что свидетельствует о наибольшей выживаемости штамма *Lactobacillus plantarum* 25/1 в условиях совместного культивирования со штаммом *Lactobacillus casei* 4/2. Композиция препарата под № 5 сохраняла количество микроорганизмов на уровне 10^6 – 10^7 на протяжении 3 мес, а спустя 4–7 мес хранения ацидофильная палочка не обнаруживалась. В образце № 6 уровень 10^6 – 10^8 КОЕ сохранялся в течение 4 мес, но спустя 7 мес хранения штамм *Lactobacillus acidophilus* 12 в образце не обнаруживался. Такие взаимоотношения лактобактерий в образцах № 4, 5 и 6 можно объяснить тем, что в процессе развития лактобактерии выделяют продукты своего обмена, в том числе вещества с регуляторными функциями (бактериоцины), которые обладают активностью только в отношении близкородственных штаммов, но, как правило, не действующие на культуру – продуцент данного токсина [14]. Таким образом, получается, что одни штаммы лактобактерий вырабатывают питательные вещества для успешной жизнедеятельности другого штамма, а второй штамм, в свою очередь, благодаря этому явлению может проявлять долгое время свою бактерицидную активность в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Т а б л и ц а 2. Антибактериальная активность композиций пробиотического препарата в процессе хранения

Патогенные штаммы/композиции	<i>Escherichia coli</i>										<i>Staphylococcus aureus</i>										<i>Streptococcus faecalis</i>									
	Срок хранения композиций препарата										Срок хранения композиций препарата										Срок хранения композиций препарата									
	свежая	15 дней	30 дней	2 мес	3 мес	4 мес	5 мес	6 мес	7 мес	свежая	15 дней	30 дней	2 мес	3 мес	4 мес	5 мес	6 мес	7 мес	свежая	15 дней	30 дней	2 мес	3 мес	4 мес	5 мес	6 мес	7 мес			
	Зона задержки роста тест-штамма, мм																													
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 12	20	20	20	18	17	16	18	<15	22	20	20	17	17	<15	<15	<15	-	-	24	20	24	18	<15	-	-	-	-			
<i>Lactobacillus plantarum</i> 25/1	24	24	16	18	20	18	<15	20	20	20	22	20	22	16	<15	<15	<15	<15	22	20	22	20	18	18	<15	<15	<15			
<i>Lactobacillus casei</i> 4/2	20	18	20	19	20	18	<15	20	20	20	20	20	20	<15	-	-	-	-	24	24	24	20	18	<15	-	-	-			
<i>Lactobacillus casei</i> 4/2 + <i>Lactobacillus plantarum</i> 25/1	22	22	20	19	18	18	<15	20	20	22	20	20	18	<15	<15	<15	<15	23	24	24	26	22	20	15	<15	<15				
<i>Lactobacillus plantarum</i> 25/1 + <i>Lactobacillus acidophilus</i> 12	22	20	22	20	20	20	20	<15	25	25	26	23	20	20	20	20	15	22	22	24	24	22	18	18	18	18				
<i>Lactobacillus casei</i> 4/2 + <i>Lactobacillus plantarum</i> 25/1 + <i>Lactobacillus acidophilus</i> 12	21	24	20	18	18	18	<15	22	22	22	20	20	20	<15	<15	<15	<15	24	24	26	20	16	20	<15	<15	<15				

П р и м е ч а н и е. Знак «-» означает отсутствие зоны задержки роста патогенного микроорганизма.

Т а б л и ц а 3. **Количество жизнеспособных микроорганизмов в жидких композициях препарата в процессе хранения**

Вариант опыта	Композиция препарата	Срок хранения композиций препарата						
		свежая	15 дней	30 дней	2 мес	3 мес	4 мес	7 мес
Образец № 1	<i>Lactobacillus acidophilus 12 (a)</i>	$8 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^6$	Не обнаружился	Не обнаружился	Не обнаружился
Образец № 2	<i>Lactobacillus plantarum 25/1(pl)</i>	$4 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^8$	$7 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^8$	$3,6 \cdot 10^7$	$4,5 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^5$
Образец № 3	<i>Lactobacillus casei 4/2(c)</i>	$2 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^8$	$1 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^8$	$6,2 \cdot 10^7$	$3,2 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^7$
Образец № 4	<i>Lactobacillus casei 4/2</i> + <i>Lactobacillus plantarum 25/1</i>	$1 \cdot 10^8(pl)$: $9 \cdot 10^7(c)$	$3 \cdot 10^8(pl)$: $5 \cdot 10^7(c)$	$2,5 \cdot 10^8(pl)$: $3 \cdot 10^7(c)$	$2 \cdot 10^8(pl)$: $1,4 \cdot 10^7(c)$	$5,9 \cdot 10^7(pl)$: $1 \cdot 10^6(c)$	$1,2 \cdot 10^7(pl)$: $1 \cdot 10^6(c)$	$2 \cdot 10^7(pl)$: Не обнаружился (c)
Образец № 5	<i>Lactobacillus plantarum 25/1</i> + <i>Lactobacillus acidophilus 12</i>	$1 \cdot 10^8(pl)$: $5 \cdot 10^7(a)$	$4 \cdot 10^8(pl)$: $3,5 \cdot 10^7(a)$	$3 \cdot 10^8(pl)$: $3,5 \cdot 10^7(a)$	$5,9 \cdot 10^7(pl)$: $5 \cdot 10^6(a)$	$2,3 \cdot 10^7(pl)$: $1,4 \cdot 10^6(a)$	$1,2 \cdot 10^6(pl)$: Не обнаружился (a)	$1 \cdot 10^4(pl)$: Не обнаружился (a)
Образец № 6	<i>Lactobacillus casei 4/2</i> + <i>Lactobacillus plantarum 25/1</i> + <i>Lactobacillus acidophilus 12</i>	$1 \cdot 10^8(pl)$: $5 \cdot 10^7(c)$: $8 \cdot 10^7(a)$	$1 \cdot 10^8(pl)$: $5,5 \cdot 10^7(c)$: $2 \cdot 10^7(a)$	$2 \cdot 10^8(pl)$: $2 \cdot 10^7(c)$: $1 \cdot 10^7(a)$	$1,5 \cdot 10^8(pl)$: $2,3 \cdot 10^7(c)$: $9 \cdot 10^6(a)$	$2 \cdot 10^8(pl)$: $4 \cdot 10^6(c)$: $5 \cdot 10^6(a)$	$1,3 \cdot 10^8(pl)$: $3,6 \cdot 10^6(c)$: $3 \cdot 10^6(a)$	$5 \cdot 10^7(pl)$: $2 \cdot 10^5(c)$: Не обнаружился (a)

Выводы

1. Молочнокислые бактерии могут обладать антагонистическим действием по отношению друг к другу, в связи с этим при конструировании пробиотических препаратов необходимо учитывать данное явление.

2. *Lactobacillus plantarum 25/1* с *Lactobacillus acidophilus 12* и *Lactobacillus plantarum 25/1* с *Lactobacillus casei 4/2* не проявляют антагонистического действия друг к другу при их совместном культивировании на питательной среде.

3. Исследования образцов препарата на протяжении 7 мес при температуре 2–4 °С показали, что наиболее стабильна по бактерицидным свойствам композиция № 5, которая на протяжении 6 мес проявляла свою активность в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus faecalis*. Остальные композиции в разные сроки хранения показали снижение своей бактерицидной активности.

4. В процессе длительного хранения образцов препарата установлено, что лактобактерии при совместном культивировании могут выделять продукты метаболизма и тем самым влиять на соотношение друг друга в препарате.

5. Для проведения дальнейших лабораторных и клинических исследований выбрана композиция № 5, получившая название «Лактосан».

Литература

1. Методические указания по диагностике, профилактике и лечению мастита у коров: Утв. начальником ГУВ Минсельхозпрода Респ. Беларусь 04.11.06. Минск: РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского НАН Беларуси», 2006. 24 с.

2. К а р т а ш о в а В. М. Получение молока высокого качества // Ветеринария. 1985. № 7. С. 77–79.

3. Л е т у н о в и ч А. А. Ассоциации микроорганизмов при маститах у коров // Сб. науч. тр. / РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского НАН Беларуси». Минск, 2005. Вып. 38: Ветеринарная наука – производству. С. 324–326.

4. Г о л о в к о А. Н., В е ч т о м о в В. Я., Г у ж в и н с к и й С. А. и др. Этиопатогенез и терапия мастита у коров // Ветеринария. 2001. № 11. С. 35–38.

5. Использование пробиотиков для профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта и терапии животных: Метод. рекомендации / П. А. Красочко, И. А. Красочко, В. А. Машеро и др. Витебск: УО «ВГАВМ», 2006. 86 с.
6. Л о г в и н о в Д. Д. Маститы и качество молока // Молочное и мясное скотоводство. М., 1992. № 5. С. 6.
7. Р о г о в И. А., Т и т о в Е. И., Г а н и н а В. И. и др. Синбиотики в технологии продуктов питания. М.: ООО «Франтера», 2006. 217 с.
8. Б л и н к о в а Л. П., А л ь т ш у л е р М. Л., Г о р о б е ц О. Б., Д о р о ф е е в а Е. С. Бактериоцины и бактериоциноподобные вещества как биологически активные средства // Клиническое питание. 2007. № 1, 2. С. А22.
9. Г о в р и л о в а Н. Н., Р а т н и к о в а И. А. Создание пробиотиков для лечения социально значимых инфекций // Клиническое питание. 2007. № 1, 2. С. А32.
10. Б о р о д и ч Л. М., Б о г у щ А. А., С а ф р о н е н к о Л. В., Д у д к о Н. В. Определение антагонистической активности молочнокислых микроорганизмов к основным возбудителям субклинического мастита у коров // Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Т. 43. Вып. 2. Витебск, 2007. С. 123–125.
11. Е г о р о в Н. С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. М.: Высшая школа, 1965. 212 с.
12. Методические рекомендации по микробиологическому исследованию молока и секрета вымени для диагностики мастита / В. М. Карташова, Л. Д. Таранова. М.: Россельхозакадемия, 1994. С. 34–35.
13. Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов: ГОСТ 10444.11–89. Введ. 01.01.91. М.: Государственный комитет СССР по управлению качеством продукции и стандартов, 1991. 19 с.
14. С т е й н и е р Р., Э д е л ь б е р г Э., И н г р э м Д ж. Мир микробов: В 3 т. / Пер. с англ. М.: Мир, 1979. Т. 1, с. 35; т. 2, с. 42–44, 69–87, 308.

L. M. BORODICH, A. A. BOGUSCH, T. I. DYMAR, L. W. SAFRONENKO, N. W. DUDKO

**ANTIMICROBE ACTIVITY AND STABILITY OF LACTOBACTERIA AND COMPOSITIONS
OF ANTIMASTITIS PREPARATIONS BASED ON THEM FOR COWS**

Summary

The article is the analysis of the research data on the antagonistic influence of probiotic cultures of microorganisms on the pathogenic and apathogenic microflora. Our obtained data on the action of probiotic cultures and compounds are cited.