

УДК 619:638.15-08 (045)

ЛАХМАН А.Р., аспірантка;

ЛЕМЕШИНСЬКА Л.Ф., аспірантка;

ГАЛАТЮК О.Є., д-р вет. наук., професор;

РОМАНИШИНА Т.О., канд. вет. наук, доцент

Кафедра мікробіології, вірусології та епізоотології

Житомирський національний агроекологічний університет

nastyalahman@gmail.com

llemesinska@gmail.com

olekhalatyuk@gmail.com

tveterinar@gmail.com

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКІВ ЗА ЕНТЕРОБАКТЕРІОЗІВ БДЖІЛ

Бджола – незамінний лікар та цілитель для людини. Перспективною та розвинутою галуззю сільського господарства в Україні є бджільництво, що окрім меду забезпечує людину цілою низкою інших цінних продуктів, які мають лікувальні властивості. Сучасні умови бджільництва, зменшення кількості пасік, погіршення екологічних умов спонукають до дій, скерованих на підтримку бджолиних сімей, активізацію їх життєздатності та збереженість у різні періоди продуктивного року. Відомо, що медоносна бджола є невід’ємним компонентом біогеоценозу планети. Її організм, відповідно, є біологічним об’єктом, що реагує на вплив різноманітних зовнішніх чинників: кількість медоносів, їх екологічну чистоту, наявність інфекційних хвороб на пасіці, якість проведення ветеринарно-санітарних та зоотехнічних заходів, використання лікувальних препаратів. Знання складу мікробіоти бджолиного кишківника важливо для забезпечення збалансування мікробного стану кишківника та поліпшення здоров’я медоносних бджіл. Згідно з останніми працями вітчизняних та іноземних учених, бактеріальні хвороби бджіл набирають все більшого поширення на пасіках України, деяких країн Європи та Америки, що завдає бджільництву значних економічних збитків. На здоров’я медоносних бджолосімей в Україні та на пасіки, розташовані у всьому світі, впливають численні біотичні та абіотичні чинники. Одними із найнебезпечніших є інфекційні хвороби бджіл, сезонні зміни розмірів бджолиних сімей, потреби в якісних кормах також впливають на здоров’я бджіл.

Встановлено, що в кишківнику бджоли містяться представники не менше 10 родів бактерій, що належать до родин *Enterobacteriaceae*: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Providencia*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Escherichia*, *Pantoea*, *Morganella*, *Serratia*. Аналізуючи дослідження вітчизняних та зарубіжних учених, слід зазначити, що мало уваги приділяють саме ролі

мікроорганізмів та мікрофлорі вулика загалом. Водночас зрушення мікрофлори в бік патогенних представників призводить до захворювання. Умовно-патогенні збудники проникають у більш глибокі осередки травного тракту бджіл стають патогенними та спричинюють дисбактеріози. Слід урахувати, що вони розширили свій діапазон проживання, зокрема гемолімфу, яєчники, слинні залози тощо. Бактерії чинять патогенний вплив на організм бджіл, що проявляється різким проносом та загальною слабкістю бджолиної сім'ї. Якщо не лікувати перші симптоми з літа, то ймовірно, що сім'я не перезимує. В Україні в останні роки реєструють значну загибель бджіл у період зимівлі, чого не спостерігали років 10 тому. З'ясовано, що такий різкий відхід бджіл зимою та весною спостерігається внаслідок масової дії умовно-патогенної мікрофлори кишківника бджоли за зниженої резистентності в бджолиних сім'ях. Закон «Про бджільництво» зобов'язує виробників використовувати лише препарати, внесені в державний реєстр пестицидів та агрохімікатів, дозволених в Україні. В Україні заборонено використання антимікробних препаратів у бджільництві (антибіотики та сульфаніламід), тому важливим є створення безпечних та ефективних засобів для боротьби та профілактики виникнення дисбактеріозів у бджіл.

З огляду на зазначене ми поставили за мету – вивчити антагонізм Ентеронорміну, який містить у своєму складі бактерії роду *Enterococcus faecalis*, бактерії роду *Lactobacillus salivarius* та бактерії *Bacillus subtilis*, щодо патогенних штамів ентеробактерій медоносних бджіл, які було виокремлено.

Методика і матеріали для дослідження. Дослідження проводили на культурі патогенних ентеробактерій, виокремлених з різних пасік Житомирської, Хмельницької та Київської областей. Культуру ентеробактерій зберігають у холодильнику за t 5–7 °С і пересівають глибинним методом з інтервалом в 30 діб на середовище АМХ (Агар Мюллера-Хінтона) та агар МРС (Ман, Рогоза, Шарп). Препарат «Ентеронормін» готували за інструкцією: до 40 г сухої речовини «Ентеронорміну» додавали 200 см³ водного розчину «Йодіс + Селен», витримували 18 годин за t 24–26 °С. Препарат застосовували в концентрації відповідно до настанови щодо застосування.

Дослідження проводили за допомогою дисків, які власноруч обробляли препаратом «Ентеронормін» у різних концентраціях, а саме: нативний розчин, розчин, розведений цукровим сиропом у концентрації 1:2 та чистий диск, який виступав контролем у цьому дослідженні. Експозиція просочення дисків становила 20 хв, після чого диски підсушували на фільтрувальному папері протягом 15 хв.

У чашку Петрі вносили по 1 мл бактеріальних суспензій та по 20 мл середовища АМХ та МРС, після чого коловими рухами розмішували вміст чашок до однорідності. Після застигання середовищ на горизонтальній поверхні столу на поверхню викладали диски просочені

препаратом «Ентеронормін» за часовою стрілкою: чистий диск, нативний препарат, препарат у розведенні із цукровим сиропом. Дослідження проводили на п'яти чашках Петрі для кожної культури та середовища, за якими спостерігали три доби.

Результати дослідження. Під час обстеження неблагополучних пасік було відібрано та досліджено змиви з вуликів уражених бджолосімей. Після комплексу мікробіологічних досліджень було виявлено у хворих сім'ях патогенні ентеробактерії.

Результати проведених нами досліджень щодо дії препарату «Ентеронормін» на ентеробактерію, виокремлену з організму бджіл *in vitro* представлено в табл. 1.

Таблиця 1

Зони росту та антагонізму препарату «Ентеронормін» на середовищах АМХ та МРС з культурою ентеробактерії (n=5)

	Середовище АМХ								Середовище МРС							
	Перша доба				Третя доба				Перша доба				Третя доба			
	Е.натив.		Е.+Ц.С.		Е.натив.		Е.+Ц.С.		Е.натив.		Е.+Ц.С.		Е.натив.		Е.+Ц.С.	
	З.р.	З.	З.р.	З.а.	З.р.	З.а.	З.р.	З.а.	З.р.	З.а.	З.р.	З.а.	З.р.	З.а.	З.р.	З.а.
M±m	0,5±0,025	0,12 ±0,026	0,5 ±0,045	0,25±0,025	0,52±0,026	0,24±0,012	0,64±0,05	0,34±0,04	0,56±0,025	0,38±0,035	0,5±0,035	0,24±0,08	0,56±0,025	0,24±0,06	0,58±0,08	0,34±0,04

Примітка: Е.натив. – «Ентеронормін» нативний;
 Е.+Ц.С. – «Ентеронормін»+50 % розчин цукрового сиропу;
 З.р. – радіус зони росту, см;
 З.а. – радіус зони антагонізму, см

З даних табл. 1 бачимо, що на першу добу зона росту нативного «Ентеронорміну» на середовищі АМХ становила 0,5±0,025 см із зоною антагонізму 0,12±0,026 см, а зона росту «Ентеронорміну» із цукровим сиропом була подібною і становила 0,5±0,045 см, однак зона антагонізму була вдвічі більшою і становила 0,25±0,025 см. На третю добу зона росту нативного «Ентеронорміну» зросла до 0,52 см, а зона росту «Ентеронорміну» із цукровим сиропом зросла на 0,12 см із зоною антагонізму до 0,34±0,04 см.

Водночас бачимо, що на першу добу зона росту нативного «Ентеронорміну» на середовищі МРС становила 0,56±0,025 см із зоною антагонізму 0,38±0,035 см. При цьому зона росту «Ентеронорміну» із цукровим сиропом була подібною і становила 0,5±0,035 см, а зона

антагонізму становила $0,24 \pm 0,08$ см. На третю добу зона росту нативного «Ентеронорміну» не змінилась, а зона росту «Ентеронорміну» із цукровим сиропом зросла до $0,58 \pm 0,08$ см. Зона антагонізму «Ентеронорміну» із цукровим сиропом зросла до $0,34 \pm 0,04$ см, що на 0,1 см більше порівняно із нативним «Ентеронорміном».

Отже, антагонізм «Ентеронорміну» до досліджуваних ентеробактерій яскраво виражений за використання дисків на середовищі МРС, що пояснюємо високою концентрацією лактобактерій «Ентеронорміну» і безпосереднім контактом лактобактерій з досліджуваними патогенними ентеробактеріями бджіл.

Антагоністичну дію «Ентеронорміну» пояснюємо підвищенням концентрації лактобактерій в середовищі, які в кишківнику бджоли за збільшення концентрації стримують розвиток умовно-патогенних ентеробактерій. Отже, зважаючи на вищеописане, можна стверджувати про активно виражену антагоністичну дію препарату «Ентеронормін» щодо досліджуваних ентеробактерій.

Висновки

1. Лабораторними дослідженнями виявлено антагонізм пробіотику «Ентеронормін» щодо патогенних ентеробактерій бджіл.

2. За застосування методу просочених дисків на середовищах АМХ та МРС дія «Ентеронорміну» на культуру патогенних ентеробактерій починається вже на 24 годину і має яскравий прояв через 48 годин після контакту препарату з досліджуваною культурою.

3. Вивчення антагонізму «Ентеронорміну» щодо ентеробактерій бджіл доцільно проводити на середовищі МРС.