

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЖИВОТНОВОДСТВО

ӘОЖ 619:614:10:616

Алимбекова М.Е., Төлемісова Ж.К., Жоланов М.Н.,
Қасенова Г.Т., Қожахметова З.А., Антане В.В.

Қазақ ұлттық аграрлық университеті

ЛАКТОБАКТЕРИЯЛАРДЫҢ БЕЛСЕНДІ ШТАМДАРЫНЫҢ БИЕНІҢ ҚЫНАП ШАЙЫНДЫСЫНДАҒЫ МИКРООРГАНИЗМДЕРГЕ ҚАРСЫ АНТАГОНИСТІК ҚАСИЕТТЕРІН АНЫҚТАУ

Андатпа. Мақалада бие қынабының микробиоценозын реттеу үшін пробиотиктік препарат дайындау мақсатында, лактобактериялардың *Lb.acidophilus* 015k-1, *Lb.acidophilus* 9p, *Lb.bulgaricus* 018k-3, *Lb.acidophilus* 021ch-4, *Lb.acidophilus* 05ch белсенді штамдарының антагонистік қасиеттері тексерілгендігі туралы мәліметтер келтірілді. Нәтижесінде, *Lb.bulgaricus* 018k-3 штамы тиімді пробиотикалық препарат жасау үшін болашағы бар деп танылды.

Кілт сөздер: бие қынабы, қынап микробиоценозы, лактобактерия, пробиотик, антагонизм.

Кіріспе. Лактобактериялардың антагонистік қасиеттерін анықтау бойынша Мечников И.И. зерттеулерінен бастап, осы күнге дейін көптеген ғылыми-зерттеу жұмыстары жүргізілуде [1,2].

Ағза мүшелерінің кілегейлі қабықтары микробиоценозының реттелуі мен белоктық және минералдық алмасудың жақсаруы барысында, лактобактериялардың маңызы зор. Табиғи факторлармен үздіксіз қатынаста болатын кілегейлі қабықтарда лактобактериялардың жетіспеушілігі жергілікті дисбиоз тудырып, ағзада қандай да бір қабыну үрдісінің жүріп жатқандығын аңғартады немесе сол қабыну үрдісінің үдеуіне әкеп соқтырады [3].

Лактобактериялардың ағзаға пайдалы қасиеттерінің бірі, олардың басым бөлігі сутегі асқын тотығын бөлу арқылы қабыну ошағындағы шартты-зардапты және зардапты микроорганизмдердің өміршендігіне кедергі келтіріп, олардың ары қарайғы дамуына жол бермейді [4].

Лактобациллалардың қалыпты метаболизм үрдісінде сутегі асқын тотығы, лактат (сүт қышқылы) өндіріледі, сондай-ақ лизоцимді және лактоцидин, реутин, лактолин, плантарицин сияқты әсер ету жағынан антибиотикке ұқсас заттарды түзеді. Лактобактериялар қан торшалары-эритроциттермен әрекеттескенде, бифидобактерияларға ұқсас қызмет атқарады: яғни, ағзаның қорғаныс қызметін қарқындытып, кілегейлі қабықтардағы регенерациялану жылдамдығын арттырады. Бірақ кей жағдайларда олар фагоцитозды және интерферон, цитокин және лизоцимды синтездеу үрдісін белсендендіре отырып, зардапты микроорганизмдер сияқты байқалуы да мүмкін. Сондай-ақ, лактобактериялар сүт қантын (лактоза) ыдырататын лактаза сияқты бірқатар гидролитикалық ферменттерді продуцирлеу арқылы, лактоздық жетіспеушіліктің дамуына кедергі келтіреді. Әйелдердің де қынап және вульвасында қалыпты микрофлораның негізгі микроорганизмі осы лактобактериялар болып табылады. Мұнда лактобактериялардың бірнеше түрлері болады. Оның басты міндеті қышқылды ортаның ауытқушылығының алдын алып, зардапты микроорганизмдердің өсуін тежейді. Сол себептен де лактобактерияларға, гинекология

саласында алғаш зерттеулер жүргізген неміс ғалымының құрметіне орай «Додерляйн таяқшалары» деп ат берген. Лактобактериялар адам және мал ағзасындағы қалыпты микрофлораның негізгі құрамдас бөлігі болып табылады[5,6].

Лактобактериялардың осындай пайдалы қасиеттерінің барлығы олардан пробиотикалық препараттар жасаудың негізі болып табылады. Пробиотиктер ретінде лактобацилдердің қасиеттері ветеринариялық гинекологияда осы уақытқа дейін толық зерттелмеген.

Бүгінгі күнде, әр түрлі ауруларды емдеу мақсатында ветеринариялық медицина саласында да пробиотикалық препараттар мен өнімдер кең қолданысқа ие болған. Бірақ, мал шаруашылығына орасан экономикалық пайда әкелетін жылқы шаруашылықтарында, әсіресе биелердің гинекологиялық аурулары кезінде пробиотиктердің қолданылуы жоқтың қасы. Биелердің жыныс жолдарының қабыну аурулары кезінде пробиотиктерді жекелей немесе антибиотиктермен бірге кешенді емдеу бағытында қолдану өз кезегінде пайдасын тигізер еді. Осы мәселелерді ескере отырып, біз биелердің қынап микробиозын реттеу үшін пробиотик қолдану мақсатында, лактобактериялардың пробиотикалық қасиетке ие штамдарын, олардың антагонистік қасиеттерін анықтау арқылы іріктедік.

Материалдар және әдістер. Зерттеу жұмыстары Қазақ ұлттық аграрлық университетінің «Акушерлік, хирургия және өсіп-өну биотехнологиясы» кафедрасында және Алматы облысы, Ескелді ауданы «Ақылбай» жылқы фермасындағы, Қарасай ауданы «Жорға» ауылшаруашылық кооперативіндегі, Талғар ауданына қарасты «Ахал-Теке» асылтұқымды жылқы зауытындағы, Ауылшаруашылық өндіруші кооператив «Алматы» асылтұқымды зауытындағы, «Байсерке-Агро» Жауапкершілігі шектеулі серіктестігіндегі биелерге жүргізілді.

Лактобактериялардың антагонистік қасиеттерін анықтау үшін Қазақ ұлттық аграрлық университетінің «Биологиялық қауіпсіздік» кафедрасының микроорганизмдер культурасы мұражайынан алынған лактобактериялардың штамдары: *Lb.acidophilus* 015k-1, *Lb.acidophilus* 9p, *Lb.bulgaricus* 018k-3, *Lb.acidophilus* 021ch-4, *Lb.acidophilus* 05ch және қынап жолдарында патологиялық өзгерістер байқалған әр түрлі жастағы 25 бас биенің қынап шайындылары қолданылды.

Биелердің қынабынан шайынды алу үшін, алдымен олардың денсаулығын клиникалық әдістермен тексердік. Шайындылар алынбас бұрын, биенің сарпайы 1:5000 қатынасында езілген фурациллин ерітіндісімен жуылып, сорғыш қағазбен кептірілді. Қынап шайындысын алғанда, шошқаларды ұрықтандыруға арналған ПОС-5 жабдығын қолдандық. Аталған жабдықтың стерильді катетірін қынапқа енгізіп, жабдық флаконындағы 50 мл стерильді физиологиялық ерітіндіні қысу арқылы қынапқа жіберіп, сол флаконмен қайтадан кері сорғыту арқылы шайындыны жинап алып, 1,5 сағат аралығында арнайы термоста зертханаға жеткіздік. Алынған сынамаларды жеңіл шайқап, әр шайындыдан 1мл көлемінде алып, Петри аяқшаларындағы ет-пептонды қоректік ортаның бетіне жайып, себінді жасадық. Шайынды қоректік ортаға сіңірілу үшін себінділерді 15-20 минутқа қалдырып қойдық. Белгілі уақыт өткен соң, Петри аяқшасындағы себінді жасалған қоректік ортаның 5 жерінен аралары кемінде 2 см болатындай етіп ұяшықтар жасап, әр ұяшыққа *Lb.acidophilus* 015k-1, *Lb.acidophilus* 9p, *Lb.bulgaricus* 018k-3, *Lb.acidophilus* 021ch-4, *Lb.acidophilus* 05ch штамдарының MRS сұйық қоректік ортасындағы өсінділерінен 0,05 мл құйып шықтық. Термостатқа 37-38⁰С орналастырып 24 сағаттан 48 сағатқа дейін бақыладық.

Зерттелген лактобактерия штамдарының әр микроорганизмге қарсы антагонистік белсенділігінің дәрежесі соңғысының өсуінің тежелу аймағының диаметріне байланысты есептелді: 10 мм-ге дейін - орташа, 20 мм-ге дейін - жоғары; 20 мм-ден асса - белсенді; өсу аймағының тежелуінің болмауы – антагонистік белсенділік нөлге тең деп есептеледі.

Сапалы әрі нақты зерттеу нәтижелерін алу мақсатында дәстүрлі бактериологиялық зерттеу әдістері қолданылды (Квасников Е.И., Нестеренко О.М. 1991) [7].

Барлық алынған нәтижелер дербес компьютерде Microsoft Excel бағдарламасында f_x – орташа арифметикалық санын және олардың статистикалық қатесін ($M \pm m$), нақтылығын (P) және салыстырмалы көрсеткіштердің корреляциялық байланысын (r) шығаратын вариациялық статистика әдісі бойынша өңделді.

Зерттеу нәтижелері және талқылау. Пробиотикалық қасиетке ие микроорганизмдер ағзаға енген соң түрлі стресс факторлары әсеріне ұшырайды, сондықтан да пробиотик дайындайтын бактерияларды таңдау барысында олардың өміршеңдігіне көңіл аудару керек. Термостатқа орналастырылған Петри аяқшаларындағы өсінділерді 24-48 сағат аралығында бақылау барысында алынған нәтижелер кестеде көрсетілген.

1-кесте. Лактобактериялардың антагонистік қасиеттерін анықтау нәтижелері (мм)

Қынап шайындылары	Зерттелетін лактобактериялар штамдары				
	Lb.acidophilus9p	Lb.acidophilus015k2	Lb.bulgaricus018k-3	Lb.acidophilus021ch-4	Lb.acidophilus05ch
№1	28	20	28	17	11
№2	23	20	30	24	23
№3	14	14	28	16	16
№4	27	16	25	16	22
№5	15	28	32	28	9
№6	18	25	30	11	28
№7	18	16	21	19	11
№8	29	23	15	21	24
№9	25	27	30	24	25
№10	20	28	28	18	27
№11	24	24	30	26	12
№12	28	12	17	30	29
№13	23	22	32	28	23
№14	18	14	17	24	9
№15	28	19	19	12	18
№16	15	30	20	27	28
№17	16	17	31	15	25
№18	18	20	30	12	10
№19	22	29	16	28	9
№20	27	27	30	14	12
№21	22	28	15	27	27
№22	18	28	29	14	30
№23	26	14	32	22	30
№24	18	18	16	17	9
№25	29	22	32	22	15
M =	22,0	21,6	25,3	20,5	19,3
m =	1,01	1,14	1,31	1,21	1,61
p =	0,05	0,05		0,01	0,01
min	14	12	15	11	9
max	29	30	32	30	30

Ескерту: **p** – лактобактерия штамдарын Lb.bulgaricus 018k-3 штамымен салыстырғандағы көрсеткіш

Кестеден көріп отырғанымыздай, ұяшықтарға құйылған *Lb.acidophilus* 9рштамының қынап шайындысындағы микроорганизмдердің өсуін минималдытежеу аймағының диаметрі №3 сынамада 14 мм тең болып, ары қарай №5, 16-15 мм, №17-16 мм, №6,7,14,18,22,24-18 мм, №10-20 мм, №19,21-22 мм, №2,13-23 мм, №11-24 мм, №9-25 мм, №23-26 мм, №4,20-27 мм, №1,12,15-28 мм және максималды диаметр №8,25 сынамаларда 32 мм болды.

Ал, *Lb.acidophilus* 015k2 штамының қынап шайындысындағы микроорганизмдердің өсуін минималдытежеу аймағының диаметрі №12 сынамада-12 мм, №3,14,23-14 мм, №4,7-16 мм, №17-17 мм, №24-18 мм, №15-19 мм, №1,2,18-20 мм, №13,25-22 мм, №8-23 мм, №11-24 мм, №6-25 мм, №9,20-27 мм, №5,10,21,22-28 мм, №19-29 мм және максималды диаметрі №16 сынамада-30 мм көрсетті.

Зерттеудегі келесі *Lb.bulgaricus* 018k-3 штамының қынап шайындысындағы микроорганизмдердің өсуін минималды тежеу аймағының диаметрі №8,21 сынамаларда 15 мм, №19,24-16 мм, №12,14-17 мм, №15-19 мм, №16-20 мм, №7-21 мм, №4-25 мм, №1,3,10-28 мм, №22-29 мм, №2, 6,9,11,18,20-30 мм, №17-31 мм және тежелу аймағының максималды диаметрі №5,13,23,25-32 мм тең болды.

Lb.acidophilus 021ch-4 штамының қынап шайындысындағы микроорганизмдердің өсуін минималды тежеу аймағы №6 сынамада 11 мм, ары қарай №15,18-12 мм, №20,22-14 мм, №14-15 мм, №3,4-16 мм, №1,24-17 мм, №10-18 мм, №7-19 мм, №8-21 мм, №23,25-22 мм, №2,9,14-24 мм, №11-26 мм, №16,21-27 мм, №5,13,19-28 мм және №12 сынамада 30 мм болып, тежелу аймағының максималды диаметрін құрады.

Сонымен қатар, *Lb.acidophilus* 05ch штамының да қынап шайындысындағы микроорганизмдердің өсуін минималды тежеу аймағының диаметрі №5,14,19,24 сынамада 9 мм, №18-10 мм, №1,7-11 мм, №11,20-12 мм, №25-15 мм, №3-16 мм, №15-18 мм, №4-22 мм, №2,13-23 мм, №8-24 мм, №9,17-25 мм, №10,21-27 мм, №6,16-28 мм, №12-29 мм және тежелу аймағының максималды диаметрі №22,23-30 мм болды.

Алынған нәтижелерді статистикалық өңдеуден өткізген кезде, *Lb.bulgaricus* 018k-3 штамының антагонистік қасиеті басқалармен салыстырғанда жоғары және нақты көрсеткіш көрсетті. Сол себептен аталған штамды биелердің қынап микробиоценозы бұзылған кезде, оны ретке келтіру үшін қолдануды дұрыс деп есептейміз.

Қорытынды. Зерттеу жұмыстарының нәтижесінде лактобактериялардың зерттеуге алынған штамдарының барлығы айтарлықтай антагонистік белсенділік танытты. Бірақ соның ішінде *Lb.bulgaricus* 018k-3 штамының биелердің қынап шайындысына қатысты антагонистік белсенділігінің едәуір жоғары екендігі айқындалды. Оның қынап шайындыларынан өсіп шыққан микроорганизмдердің өсуін тежеу аймағы 15-32 мм аралығын құрады.

Ал, басқа штамдардың антагонистік қасиетіне келсек, *Lb.acidophilus* 9р штамы: 14-29 мм, *Lb.acidophilus* 015k-1штамы: 12-30 мм, *Lb.acidophilus* 021ch-4 штамы: 11-30 мм, *Lb.acidophilus* 05ch штамы: 9-30 мм. құрады.

Зерттеулер нәтижесінде, биелердің қынап микробиоценозын реттеу үшін қолдануға арналған *Lb.bulgaricus* 018k-3 штамы тиімді пробиотикалық препарат жасау үшін перспективті деп танылды.

Қолданылған әдебиеттер

1. Фадеева, И.В. Разработка комплексного пробиотического препарата на основе лактобактерий. Дисс., канд.биол.наук. Пермь, 2004.-155 б.
2. Шкарупета М.М. Влияние представителей нормальной микрофлоры и их компонентов на антиинфекционную резистентность. Автореф. дисс.канд.мед.наук. Москва, 1990.-26 б.

3. Пробиотики – альтернатива антибиотикам. Тулемисова Ж.К. Ветеринария. №3 (13), 2010. 55-58 б.

4. Alvares S., Herrero C., Bru E. et al. Effect of Lactobacillus casei and yogurt administration on prevention of Pseudomonas aeruginosa infection in young mice // J. Food Prot. – 2001. – Vol.64. №11. – P.1768-1774.

5. Шатихин А.И., Литвицкий П.Ф., Сурнакова Н.Е. и др. Влияние факторов среды на состояние системы иммунобиологического надзора // Аллергология и иммунология. - 2004. –Т.5, №2. –С.285-288.

6. Бережной В.В., Крамарев С.А., Шунько Е.Е. Микрофлора человека и роль современных пробиотиков в ее регуляции // Здоровье женщины. – 2004. - №1(17). – С. 134-139.

7. Квасников Е.И., Нестеренко О.М. Молочнокислые бактерии и пути их использование. Москва, 1975.

Алимбекова М.Е., Тулемисова Ж.К., Джуланов М.Н.,
Касенова Г.Т., Кожакметова З.А., Антане В.В.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АКТИВНЫХ ШТАММОВ ЛАКТОБАКТЕРИИ ПРОТИВ ВЛАГАЛИЩНЫХ СМЫВОВ У КОБЫЛ

Резюме

Ключевые слова: микробиоценоз влагалища, лактобактерии, пробиотики, антагонизм.

В целях изготовления пробиотического препарата для коррекции микробиоценоза влагалища у кобыл, были проверены антагонистические свойства активных штаммов лактобактерии Lb.acidophilus 015k-1, Lb.acidophilus 9p, Lb.bulgaricus 018k-3, Lb.acidophilus 021ch-4, Lb.acidophilus 05ch. В результате исследований штамм лактобактерии Lb.bulgaricus 018k-3 показал лучшие результаты и оказался перспективным для изготовления пробиотического препарата.

Alimbekova M.E., Tulemisova Zh.K., Dzhulanov M.N.,
Kasenova G.T., Kozhakhmetova Z.A., Antane V.V.

DETERMINATION OF ANTAGONISTIC PROPERTIES OF THE ACTIVE SPECIES OF LACTOBACILLI AGAINST VAGINAL WASHINGS ARE IN MARES

Summary

In order to manufacture probiotic preparation for the correction of vaginal microbiocenosis in mares were tested antagonistic properties of the active strains of lactobacilli Lb.acidophilus 015k-1, Lb.acidophilus 9p, Lb.bulgaricus 018k-3, Lb.acidophilus 021ch-4, Lb.acidophilus 05ch. As a result, a strain of Lactobacillus Lb.bulgaricus 018k-3 showed consistent results and was promising for the production of probiotic preparation.

Keywords: vagina in mares, vaginal microbiocenosis, Lactobacillus, probiotic, antagonism.