

ВПЛИВ ПРОБІОТИКІВ НА МІКРОБІОЦЕНОЗ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ТЕЛЯТ

Шкромата Оксана Іванівна

доктор ветеринарних наук, професор

Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

ORCID: 0000-0003-1751-7009

oshkromada@gmail.com

Дудченко Юлія Андріївна

аспірант кафедри терапії, фармакології, клінічної діагностики та хімії

Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

ORCID: 0000-0001-9243-8621

dudchenko.yulia@ukr.net

Удовенко Яна Сергіївна

асистент кафедри терапії, фармакології, клінічної діагностики та хімії

Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

ORCID: 0000-0001-7260-3140,

f_vet@ukr.net

В роботі викладені результати дослідження про використання пробіотичних штамів мікроорганізмів для телят від народження до місяця. Пробиотики застосовуються у молочному господарстві для підвищення імунітету новонароджених телят та профілактики шлунково-кишкових розладів, збільшенню середньодобових приростів, зменшенню виробничих стресів, нормалізації мікробіоти. Метою роботи було визначити вплив пробіотичних штамів мікроорганізмів на мікробіоту шлунково-кишкового тракту телят. Дослідження проводили в умовах господарства ТОВ АФ «Хлібодар» с. Головашивка Сумського району Сумської області, в якому утримується велика рогата худоба різних технологічних груп. При вибірковому експерименті формували п'ять дослідних груп по п'ять тварин у кожній та одна - контрольна. Телятам дослідних груп випоювали разом з заміном молозива пробіотичні штами мікроорганізмів по 5 г на кожну тварину: *Bacillus coagulans*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*.

B. coagulans не сприяв росту лактобактерій - 7×10^4 , однак добре зменшував кількість умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* 10^1 , порівняно з контрольною групою телят без пробіотики 3×10^1 . *B. mucilaginosus* сприяв розмноженню *Lactobacillus* sp. до 8×10^6 , порівняно до контрольної групи 1×10^5 . Також пробіотик пригнічував ріст умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* нижче 10^1 . При випоюванні телятам *B. mucilaginosus* був відсутній ріст *Escherichia coli*, які мають гемолітичну активність та зменшення загальної кількості *Escherichia coli* до 2×10^4 . *B. megaterium* позитивно впливає на ріст *Lactobacillus* sp. 5×10^6 , на жаль при цьому збільшується кількість *Clostridium* 2×10^2 та *Escherichia coli* 6×10^4 , порівняно з контрольною групою 3×10^1 - 3×10^4 відповідно. *B. pumilus* сприяє росту та розмноженню лактобактерій 7×10^5 , порівняно до контролю - 1×10^5 . Пробиотик не значно пригнічує ріст *Clostridium* та *Enterobacteriaceae*. Не знищує кишкову паличку з гемолітичною активністю. *B. amyloliquefaciens* не є антагоністом для *Clostridium* 2×10^2 та *Escherichia coli* 6×10^4 . *B. amyloliquefaciens* знищує гемолітичну кишкову паличку, однак при цьому збільшується ріст дріжджоподібних грибів до 1×10^2 , стафілококів до 2×10^4 порівняно з контрольною групою 7×10^1 та 6×10^3 відповідно.

Бактерії родів *Salmonella*, *Pseudomonas* не були виявлені в фекальних масах телят дослідних та контрольних груп, що вказує на благополуччя господарства стосовно шлунково-кишкових захворювань бактеріального походження. Кількість біфідобактерій у всіх дослідних та контрольній групі було виявлено до 10^5 . Проведені дослідження використання спороутворюючих пробіотичних штамів *Bacillus* spp. для телят доводять часткову ефективність кожного з них і дають підставу для створення комплексного пробіотичного засобу із залученням декількох штамів для отримання максимального ефекту.

Ключові слова: пробіотичні спороутворюючі штами *Bacillus* spp., телята, шлунково-кишкова мікрофлора, жуйка, травлення

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.1.1>

Вступ. Інтенсифікація виробництва молочної промисловості призвела до збільшення вживання вуглеводистих кормів жуйними тваринами, що викликало збільшення випадків метаболічних розладів у вигляді ацидозу рубця. На фоні цих процесів відбувається зниження рН в рубці, порушення мікробіоти, і дисфункція травлення. Інтоксикація організму пов'язана із зменшення продукування органічних кислот рубцевими мікроорганізмами, такими як *Streptococcus bovis*. Однак вплив кількості вуглеводів на мікроорганізми рубця не повністю вивчений.

Раніше вважалося що ацидоз рубця можна профілактувати лише збалансованим раціоном. Штучним шляхом зменшували відсоток зерна, додаючи при цьому грубі корми до раціону. Однак одразу виникали проблеми, пов'язані з втратою продуктивності. Більшість технологій утримання передбачає використання декількох типів адаптаційних раціонів, які містять суміш зерна та кормові рослини у різних співвідношеннях. Такий механізм регулювання раціонів є доволі ефективним при контролюванні ацидозу, але він є трудомістким, витратним та повільним.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Заборона

у тваринництві на використання гормонів та антибіотиків для стимуляції росту призвела до необхідності використання безпечних кормових добавок у вигляді пробіотичних штамів мікроорганізмів (Cheng et al., 2014). Складання раціону для телят має важливе завдання забезпечити фізіологічно необхідними поживними речовинами. При цьому враховують вік тварин та технологію утримання. Одночасно з цим виникли ризики інфекційних захворювань у тварин (Hao et al., 2014).

Регуляція мікрофлори в рубці є необхідним елементом харчування для жуйних тварин. Експериментально доведено, що мікробіодоз шлунково-кишкового тракту великої рогатої худоби безпосередньо впливає на нормальне функціонування всіх систем організму (Basso et al., 2014; Tan et al., 2014).

Високотехнологічний сучасний спосіб утримання жуйних тварин зменшує їх контакт землею та водоймами, які є джерелами корисної мікрофлори. Велике значення має технологія вирощування телят: разом з матір'ю та окремо в профілакторіях (Shkromada, O., et al., 2019). Мікробіота рубця починає формуватись у телят одразу після народження, потрапляючи з навколишнього середовища. Нормальне повноцінне функціонування рубця у молодняка великої рогатої худоби стартує через шість тижнів (Kong et al., 2019; Liu et al., 2019).

Через місяць використання ферментно-пробіотичної добавки на основі споруутворюючих *Bacillus* spp. телятам чисельність бактерій вірогідно збільшилась на 94,3 %; інфузорій – на 40,5 %; ентодіноморфів – на 26, %, порівняно до контролю (* $P < 0,001$). Отримані дані реєстрації першої жуйки у телят доводять, що складові ферментно-пробіотичної добавки «Імунобакетрин- D» прискорюють заселення мікрофлорою та розвиток рубцевого травлення у телят у 2,5 рази, порівняно із телятами контрольної групи. Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні впливу ферментно-пробіотичної добавки «Імунобакетрин- D» на показники рубцевої ферментації телят (Rybachuk et al., 2020).

Зараз використовують обмежену кількість пробіотиків у харчовій, медичній промисловості та тваринництві: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacillus subtilis* та ін. Лактобактерії та Біфідобактерії наразі є популярними у використанні пробіотичні засоби. Недоліком цих штамів є слабка термостабільність, чутливість до зміни pH, впливу травних ферментів та жовчних кислот (Ruiz et al., 2011).

Існують також технічні проблеми із зберіганням, використанням та механізмом їх доставки. Також *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* не утворюють спор, які можна піддавати ліофільній сушці, що зменшує термін придатності про біотичних порошкоподібних засоби. (Govender et al., 2014)

В даний час використовуються в якості пробіотиків та дієтичних добавок кілька штамів *Bacillus* sp. (Mingmongkolchai et al., 2018)

Різні види *Bacillus* spp. все більше використовуються у міжнародній сільськогосподарській промисловості через властивість утворювати спори. За використання сучасних технологій можна виробляти спори пробіотиків для використання на виробництві, змішуючи їх з денним раціоном кормів для тварин. Наразі фармацевтичні компанії виробляють спори *Bacillus* sp., які витримують нагрівання до 80 °C, слаболужне та слабокисле pH шлунково-кишкового тракту і не потребують спеціальних умов зберігання. (Kapse et al., 2018).

Кожний штам *Bacillus* spp. має свої властивості та

специфічну дію на організм телят. Тому в цій роботі були проведені аналіз результатів використання *Bacillus coagulans* (Fijan, 2014), *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* (Wu et al., 2014), *Bacillus amyloliquefaciens* (EFSA, 2014) для новонароджених телят.

Ферменти, такі як протеаза, пробіотичних штамів роду *Bacillus* мають властивості подібні до антимікробних засобів. Доведено, що *Bacillus amyloliquefaciens* (EFSA, 2014) може продукувати ферменти і антибіотики широкого спектру дії, які пригнічують ріст умовно-патогенної бактеріальної мікрофлори та мікроспоридіїв. Ізольовані протеази здатні лізувати живі клітини *Aphylococcus aureus* та *Candida albicans*.

Bacillus coagulans (*B. coagulans*) - факультативний грампозитивний споруутворюючий анаеробний, який виробляє молочну кислоту. Його називають королем пробіотиків через стійкість у шлунково-кишковому тракті до ферментів та відсутність токсичності. Але фармакологічний вплив на організм тварин є недостатньо вивченим.

B. coagulans термостійкий; оптимальна температура для росту для *B. coagulans* становить від 35 до 50 °C, а оптимальна pH 5,5 - 6,5. Спори *B. coagulans* стійкі, стабільні, активуються в слабкокислому середовищі шлунку, а потім проростають і розмножуються в кишечнику. *Bacillus coagulans* у шлунково-кишковому тракті з відіграє роль молочнокислих бактерій (LAB) (Zhou et al., 2020).

Мета роботи. Метою роботи було визначити вплив пробіотичних штамів мікроорганізмів на мікробіоту шлунково-кишкового тракту телят.

Матеріали і методи досліджень. Для дослідження були залучені п'ять дослідних груп телят по п'ять тварин у кожній, яким випоювали пробіотичні штами *Bacillus* spp. В контрольній групі пробіотики не задавали. Дослід проводили протягом одного місяця. Експеримент проводили в умовах ТОВ АФ «Хлібодар» с. Головашівка Сумського району Сумської області, в якому вирощують велику рогату худобу різних технологічних груп. Телятам дослідних груп одразу після народження випоювали разом з заміноміком молока пробіотики *Bacillus* spp. 3 розрахунку 5 грам на тварину. Всім телятам був забезпечений вільний доступ до якісного сіна та води. Від телят після завершення дослідів були відібрані зразки фекалій.

З метою встановлення мікробіоценозу кишечника у телят бактеріологічними методами проводили дослідів на наявність патогенних колоній мікроорганізмів, лактобактерій, бактерій групи кишкової палички, сальмонел, сульфитредуючих клостридій, стафілококів, псевдомонад, біфідобактерій, дріжджоподібних грибів, та інших бактерій з родини *Enterobacteriaceae*. Виявляли в фекальних масах мікроорганізми, які мають фактори патогенності, такі як ліцитіназу, гемолізини та плазмокоагулазу. Проводили десятикратне розведення проб матеріалу та посів на селективні середовища. Після культивування мікроорганізмів підраховували кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г фекалій (КУО/г).

Для виділення сальмонел та псевдомонад додатково робили висіви на середовища для накопичення даних мікроорганізмів, зокрема Магнієве середовище (для сальмонел) та середовище №8 (для псевдомонад), виробництва ФБУН ГНЦ та ТОВ «Фармактив». Видову належність ізолюваних культур мікроорганізмів визначали за тестами, що рекомендовані у «Bergey's Manual of Systematics Bacteriology», застосовували МПБ з феноловим червоним (Phenol Red

Broth Base), для диференціальної діагностики мікроорганізмів диски та смужки виробництва «Himedia Laboratories Pvt. Limited» (Індія). Суху цитратну плазму кролика використовували для визначення плазмокоагулази (виробництво ПАТ «Фармстандарт-Біолік» (Україна), гемолизинів – 5 % кров'яний агар, лецитовітелаз (лецитинази) – жовтково-сольовий агар.

Результати досліджень. Підтримка нормальної мікрофлори в рубці телят є дуже складним та важливим завданням у тваринництві. В перший місяць після народження у телят формується імунітет та мікрофлора шлунково-кишкового

тракту. Важливим є ефективна робота елементів резистентності, де значну роль відіграє мікробіота шлунково-кишкового тракту тварини. Зменшення технологічного стресу, жорстке дотримання санітарних умов та якісна годівля сприяє у досягненні максимальних приростів та міцному здоров'ю тварин. Слід також зазначити, що у дослідному господарстві епізоотична ситуація благополучна стосовно інфекцій, які уражують шлунково-кишковий тракт молодняка великої рогатої худоби. Однак у тварин спостерігали періодичні випадки діареї. Використання пробіотиків для телят повинно сприяти вирішенню проблем пов'язаних з формуванням імунітету та формуванню мікробіоти шлунково-кишкового тракту (табл.).

Таблиця

Результати визначення мікробіоценозу кишечника у телят

№	Показники, в 1 см ³	Телята					Контроль
		<i>B. coagulans</i>	<i>B. mucilaginosus</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. amyloliquefaciense</i>	
1	Лактобактерії (<i>Lactobacillus</i> sp.)	7x10 ⁴	8x10 ⁶	5x10 ⁶	7x10 ⁵	1x10 ⁶	1x10 ⁵
2	Біфідобактерії (<i>Bifidobacterium</i>)	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵
3	Бактерії роду <i>Clostridium</i>	Нижче 10 ¹	Нижче 10 ¹	2x10 ²	1x10 ¹	2x10 ²	3x10 ¹
4	<i>Escherichia coli</i>	1x10 ²	2x10 ⁴	6x10 ⁴	9x10 ⁴	6x10 ⁴	3x10 ⁴
5	<i>Escherichia coli</i> , які мають гемолітичну активність	+	немає	немає	+	немає	+
6	Умовно патогенні м/о з родини <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i>)	Нижче 10 ¹	2x10 ²	Нижче 10 ¹	4x10 ²	2x10 ²	6x10 ²
7	<i>Salmonella</i>	немає	немає	немає	немає	немає	немає
8	<i>Pseudomonas</i>	немає	немає	немає	немає	немає	немає
9	Дріжджоподібні гриби	3x10 ¹	3x10 ²	4x10 ²	3x10 ²	1x10 ²	7x10 ¹
10	Стафілококи	8x10 ³	1x10 ⁴	4x10 ⁴	3x10 ⁴	2x10 ⁴	6x10 ³
11	Стафілококи, які мають гемолітичні властивості	немає	немає	немає	немає	немає	немає
12	Стафілококи, які мають ліцитіназу активність	немає	немає	немає	немає	немає	+
13	Стафілококи, які мають плазмокоагулазну активність	немає	немає	немає	немає	немає	немає

Результати, отримані в ході експерименту, доводять, що випоювання телятам дослідної групи *B. coagulans* не сприяє росту лактобактерій – 7x10⁴. Однак *B. coagulans* добре зменшує кількість умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* 10¹, порівняно з контрольною групою телят без пробіотика 3x10¹. Проте, *B. coagulans* не знищували бактерії *Escherichia coli*, які мають гемолітичну активність. Кишкова паличка з гемолітичною активністю за умов низької кількості біфідо- і лактобактерій може бути причиною шлунково-кишкових розладів. Крім того може набувати біоагресивності, долати захисні бар'єри господаря та спричиняти системні захворювання. Кількість *Escherichia coli* складала 1x10², порівняно до контрольної групи 3x10⁴. Умовно патогенні мікроорганізми з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) в фекаліях телят дослідної групи, яким випоювали *B. coagulans* було на рівні 10¹, що значно нижче, ніж у контролі – 6x10². Стафілококи, які мають гемолітичні властивості, ліцитіназу та плазмокоагулазну активність, також не були виявлені в пробах фекалій отриманих від дослідних тварин. Дріжджоподібні гриби були виявлені в кількості 3x10¹, порівняно до контрольної групи – 7x10¹.

При проведенні експерименту клінічні показники телят: пульс, температура, частота дихання та скорочення рубця були в межах фізіологічної норми (Izuddin et al., 2020),

тварини мали добрий апетит.

B. mucilaginosus сприяв розмноженню *Lactobacillus* spp. до 8x10⁶, порівняно до контрольної групи 1x10⁵. Також пробіотик пригнічував ріст умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium* нижче 10¹. При випоюванні телятам *B. mucilaginosus* був відсутній ріст штамів *Escherichia coli*, які мають гемолітичну активність, та зменшення загальної кількості *Escherichia coli* до 2x10⁴. Дріжджоподібні гриби були виявлені в кількості 3x10², що більше, ніж в контролі – 7x10¹. *B. mucilaginosus* не пригнічував ріст стафілококів 1x10⁴. Кількість умовно патогенних мікроорганізмів з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) в фекаліях телят дослідної групи, яким випоювали *B. coagulans*, була на рівні 2x10², що з нижче, ніж у контролі – 6x10².

B. megaterium позитивно впливає на ріст *Lactobacillus* spp., збільшуючи їх число до 5x10⁶. Нажаль, при цьому збільшується кількість бактерій роду *Clostridium* до 2x10² та *Escherichia coli* – 6x10⁴, порівняно з контрольною групою 3x10¹ та 3x10⁴ відповідно. *B. megaterium* не зменшує ріст дріжджоподібних грибів 4x10² та стафілококів 4x10⁴. Пробиотичний штам здатний знищувати кишкову паличку з гемолітичними властивостями. Кількість мікроорганізмів з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) при застосуванні *B. megaterium* зменшилось до 10¹, що значно

нижче, ніж у контролі – 6×10^2 .

B. pumilus сприяє росту та розмноженню лактобактерій 7×10^5 , порівняно до контролю – 1×10^5 . Не значно пригнічує ріст *Clostridium* та *Enterobacteriaceae*. Не знищує кишкову паличку з гемолітичною активністю. Збільшується ріст кишкової палички, стафілококів та дріжджоподібних грибів, порівняно з контролем.

B. amyloliquefaciense створював сприятливі умови для росту *Lactobacillus* sp. 1×10^6 . Пробиотик не є для антагоністом для *Clostridium* 2×10^2 та *Escherichia coli* 6×10^4 . *B. amyloliquefaciense* знищує гемолітичну кишкову паличку, однак при цьому збільшується ріст дріжджоподібних грибів до 1×10^2 , стафілококів до 2×10^4 порівняно з контрольною групою 7×10^1 та 6×10^3 відповідно.

Бактерій *Salmonella*, *Pseudomonas* не були виявлені в фекальних масах телят дослідних та контрольних груп, що вказує на благополуччя господарства стосовно шлунково-кишкових захворювань бактеріального походження. Кількість біфідобактерій у всіх дослідних та контрольній групі було виявлено до 10^5 .

Обговорення. У рубці великої рогатої худоби створені оптимальні умови для існування мікрофлори – це рН та постійна температура тіла. Мікробіота шлунково-кишкового тракту бере участь у метаболізмі вуглеводів, ліпідів, жирів та білків, які містяться потрапляють з кормом (Silva et al., 2016; Soares et al., 2017).

Дисбаланс кислотності або зміна температурного балансу може призвести до зменшення або загибелі значної частини мікрофлори шлунково-кишкового тракту жуйних (Fan et al., 2015). Основою раціону жуйних тварин є корма рослинного походження і тому целюлозні бактерії мають значну роль у травленні (Aikman et al., 2010; Stover et al., 2017). Крім того є важливим джерелом енергії у кормах телят. Використання концентрованих зернових кормів у раціоні дуже ефективно для стимуляції росту та розвитку тварин, але вони можуть порушувати метаболізм.

Порушення мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту телят веде до порушення процесів абсорбції, запалення слизової оболонки кишечника. На фоні виникнення інтоксикації організму виникають ентерит, діарея порушення водно-сольового балансу організму. Одним з шляхів подолання цієї проблеми можуть бути пробіотичні мікроорганізми.

Дослідники намагалися реалізувати замість адапційних кормів та інших складних схем раціонів застосовувати пробіотичні штами спороутворюючих мікроорганізмів *Bacillus* spp. Бацилуси зменшують утворення молочної кислоти в рубці за рахунок пригнічення мікроорганізмів *Streptococcus bovis* і *Lactobacillus* spp.

Безпосереднє введення пробіотичних мікроорганізмів для регуляції мікробіоти шлунково-кишкового тракту та підвищення продуктивності тварин набуло максимального поширення протягом останніх 10 років. Існують два основних шляхи введення мікроорганізмів, які можливі для використання в молочному скотарстві для контролю мікробіоти шлунково-кишкового тракту та рН рубця: перший – застосування мікроорганізмів, які виробляють молочну кислоту, і другий – використання пробіотичних штамів бактерій, здатних використовувати молочну кислоту.

В першому випадку, використання таких видів мікроорганізмів як *Enterococcus*, призводить до збільшення молоч-

ної кислоти в рубці. Поступово відбувається адаптація мікробіоти шлунково-кишкового тракту. Однак ці заходи не забезпечують надійного контролю ацидозу та не запобігають пригніченню умовно-патогенної мікрофлори.

З іншого боку, ефективним є додавання безпосередньо специфічних видів пробіотичних штамів спороутворюючих мікроорганізмів таких як *Bacillus* spp, які здатні до використання молочної кислоти для свого метаболізму і тим самим знижують її вміст у рубці (Diao et al., 2017; Sun et al., 2010).

Дослідниками доведено, що *B. coagulans* може виробляти бактеріцид, який має назву коагулін. Також треба вказати, що вказаний штам не здатний закріплюватись на епітелії кишечника і повністю виводиться з організму через чотири-п'ять діб, якщо його періодично не вводити в організм. Тому *B. coagulans* необхідно тривалий термін застосовувати для того щоб отримати максимальний пробіотичний ефект (Shinde et al., 2019).

Треба відмітити, що *B. mucilaginosus* та *B. megaterium* найкраще спрацювали в якості пробіотиків для телят у даному дослідному господарстві. Всі дослідження проводили у порівнянні із контрольними тваринами без застосування будь-яких засобів, які б могли вплинути на формування їх мікрофлори. Однак треба зазначити, що *B. mucilaginosus* та *B. megaterium* виступали як слабкі антагоністи стосовно стафілококів та *Escherichia coli*, порівняно із іншими *Bacillus* spp. За даними багатьох науковців та практикуючих лікарів з'ясовано, що в кожному окремому господарстві циркулює своя мікрофлора і підбір пробіотиків необхідно проводити індивідуальним способом з урахуванням специфіки кожного господарства.

Пробиотичний штам *B. coagulans* добре зменшує кількість умовно патогенних мікроорганізмів роду *Clostridium*, *Escherichia coli* та дріжджоподібних грибів. Також потрібно уточнити, що пробіотичні штами *Bacillus* spp. пригнічують умовно патогенну мікрофлору, не впливаючи на іншу. Таким чином знищуючи наприклад колонії *Escherichia coli*, ми провокуємо збільшення колоній дріжджоподібних грибів.

B. pumilus та *B. amyloliquefaciense* не проявили достатньої ефективності для пригнічення умовно-патогенної мікрофлори у шлунково-кишковому тракті телят. Дещо збільшилась кількість лактобактерій, але також збільшився ріст кишкової палички, стафілококів та дріжджоподібних грибів, порівняно з контролем.

Тому, на основі проведеного експерименту, треба зазначити, що використання в господарстві одного пробіотичного штаму *Bacillus* spp. буде помилковим. Необхідно визначитись із комплексом пробіотичних штамів, які будуть доповнювати один одного. Перспектива подальшого дослідження: формування комплексу спороутворюючих пробіотичних штамів *Bacillus* spp. для використання у господарствах з вирощування молодняка великої рогатої худоби.

Висновки.

1. За результатами бактеріологічних досліджень вмісту кишечника у телят було виявлено кількість лактобактерій у межах від 7×10^4 до 2×10^7 ; рівень біфідобактерій у межах 10^5 ; наявність кишкових паличок з гемолітичними властивостями у телят контрольної групи та дослідних із застосуванням *B. coagulans* та *B. pumilus*.

2. Використання спороутворюючих пробіотичних штамів *Bacillus* spp. для телят доводять часткову ефективність кожного з них і дають підставу для створення комплексного

References:

1. Cheng, G., Hao, H., Xie, S., Wang, X., Dai, M., Huang, L. and Yuan, Z. (2014) Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Front Microbiol* 5, 69– 83. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00217>
2. Hao, H., Cheng, G., Iqbal, Z., Ai, X., Hussain, H. I., Huang, L., Dai, M., Wang, Y., Liu, Z., & Yuan, Z. (2014). Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals. *Frontiers in microbiology*, 5, 288. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00288>.
3. Basso, F.C., Adesogan, A.T., Lara E.C., Rabelo, C. H. S., Berchielli, T. T., Teixeira, I. A. M. A., Siqueira, G. R., Reis, R. A. (2014). Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs. *J Anim Sci*. 92(12),5640-5650. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8258>
4. Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A.N., Mackay, C.R., Macia, L. (2014). The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol*. 121, 91–119.
5. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9>
6. Shkromada, O., Palii, A., Palii, A., Skliar, O., Dudchenko, Y., & Necherya, T. (2019). Improvement of milk quality for micro-climate formation on cattle farms. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, (4 (47), 43-49. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2019.4.7>
7. Kong, L., Yang, C., Dong, L., Diao, Q., Si, B., Ma, J., & Tu, Y. (2019). Rumen Fermentation Characteristics in Pre- and Post-Weaning Calves upon Feeding with Mulberry Leaf Flavonoids and *Candida tropicalis* Individually or in Combination as a Supplement. *Animals : an open access journal from MDPI*, 9(11), 990. doi.org/10.3390/ani9110990
8. Liu, X., Zhao, W., Yu, D., Cheng, J. G., Luo, Y., Wang, Y., Yang, Z. X., Yao, X. P., Wu, S. S., Wang, W. Y., Yang, W., Li, D. Q., & Wu, Y. M. (2019). Effects of compound probiotics on the weight, immunity performance and fecal microbiota of forest musk deer. *Scientific reports*, 9(1), 19146. doi.org/10.1038/s41598-019-55731-5
9. Rybachuk, Z., Shkromada, O., Predko, A., & Dudchenko, Y. (2020). Influence of probiotics “Immunobacterin-D” on biocenoses and development of the gastrointestinal tract of calves. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 22-27. <https://doi.org/10.32718/nvvet9804>
10. Ruiz, L., Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M., de Los Reyes-Gavilán, C. G., Margolles, A., & Sánchez, B. (2011). How do bifidobacteria counteract environmental challenges? Mechanisms involved and physiological consequences. *Genes & nutrition*, 6(3), 307–318. <https://doi.org/10.1007/s12263-010-0207-5>
11. Govender, M., Choonara, Y. E., Kumar, P., du Toit, L. C., van Vuuren, S., & Pillay, V. (2014). A review of the advancements in probiotic delivery: Conventional vs. non-conventional formulations for intestinal flora supplementation. *AAPS PharmSciTech*, 15(1), 29–43. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-0027-1>
12. Mingmongkolchai, S., & Panbangred, W. (2018). *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of applied microbiology*, 124(6), 1334–1346. <https://doi.org/10.1111/jam.13690>
13. Kapse, N. G., Engineer, A. S., Gowdaman, V., Wagh, S., & Dhakephalkar, P. K. (2019). Functional annotation of the genome unravels probiotic potential of *Bacillus coagulans* HS243. *Genomics*, 111(4), 921–929. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.05.022>
14. Fijan S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, 11(5), 4745–4767. <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
15. Wu, H.J., Sun, L.B., Li, C.B., Li, Z.Z., Zhang, Z., Wen, X.B., Hu, Z., Zhang, Y.L. (2014) Enhancement of the immune response and protection against *Vibrio parahaemolyticus* by indigenous probiotic *Bacillus* strains in mud crab (*Scylla paramamosain*). *Fish Shellfish Immunol* 41, 156– 162. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.08.027>
16. EFSA (2014) Guidance on the assessment of the toxigenic potential of *Bacillus* species used in animal nutrition. *EFSA J* 12, 3665. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3665>
17. Zhou, Y., Zeng, Z., Xu, Y., Ying, J., Wang, B., Majeed, M., Majeed, S., Pande, A., & Li, W. (2020). Application of *Bacillus coagulans* in Animal Husbandry and Its Underlying Mechanisms. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10(3), 454. <https://doi.org/10.3390/ani10030454>
18. Izuddin, W. I., Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samsudin, A. A. (2020). Dietary Postbiotic *Lactobacillus plantarum* Improves Serum and Ruminal Antioxidant Activity and Upregulates Hepatic Antioxidant Enzymes and Ruminal Barrier Function in Post-Weaning Lambs. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(3), 250. doi.org/10.3390/antiox9030250
19. Silva, L.D.D., Pereira, O.G., Silva, T.C.D., Valadares Filho, S.C., Ribeiro, K.G. (2016) Effects of silage crop and dietary crude protein levels on digestibility ruminal fermentation, nitrogen use efficiency, and performance of finishing beef cattle. *Anim Feed Sci Technol*. 220, 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.07.008>.
20. Soares, M.S., Oliveira, P.S., Debom, G.N., DaSilveira, M.B., Polachini, C.R., Baldissarelli, J., et al. (2017). Chronic administration of methionine and/or methionine sulfoxide alters oxidative stress parameters and ALA-D activity in liver and kidney of young rats. *Amino Acids*. 49(1), 129–138. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2340-y>.
21. Fan, P., Li, L., Rezaei, A., Eslamfam, S., Che, D., Ma, X. (2015). Metabolites of dietary protein and peptides by intestinal microbes and their impacts on the gut. *Curr Protein Pept Sci*. 16, 646–654. <https://doi.org/10.2174/1389203716666150630133657>.
22. Aikman, P.C., Henning, P.H., Humphries, D.J., Horn, C.H. (2010). Rumen pH and fermentation characteristics in dairy cows supplemented with *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125 in early lactation. *J. Dairy Sci*. 94, 2840–2849. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3783>
23. Stover, P.J., Durga, J., Field, M.S. (2017). Folate nutrition and blood–brain barrier dysfunction. *Curr Opin Biotechnol*. 44,

146–152. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.01.006>.

24. Diao, Q., Zhang, R., Tu, Y. (2017). Current research progresses on calf rearing and nutrition in China. J. Integr. 16, 2805–2814. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61767-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61767-2)

25. Sun, P., Wang, J.Q., Zhang, H.T. (2010). Effects of *Bacillus subtilis* natto on performance and immune function of preweaning calves. J Dairy Sci. 93(12), 5851–5855. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3263>

26. Shinde, T., Vemuri, R., Shastri, M.D., Perera, A.P., Tristram, S., Stanley, R., Eri, R. (2019). Probiotic *Bacillus coagulans* MTCC 5856 spores exhibit excellent in-vitro functional efficacy in simulated gastric survival, mucosal adhesion and immunomodulation. J. Funct. Foods, 52, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.031>.

O.I. Shkromada, Dr. Vet. Sciences, Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Yu.A. Dudchenko, PhD student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Ya. S. Udovenko, Assistant Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Probiotic effect on a gastrointestinal microbiocenosis of calves

The article presents studies about probiotic strains for calves from birth to one month of age. Probiotics are used in dairy farming to increase the immunity of newborn calves and prevent gastrointestinal disorders, increase average daily gain, reduce production stress, normalize the microbiota. The aim of the study was to determine the effect of probiotic strains of calves gastrointestinal microbiota. The research was carried out in the farm «Hlibodar» (village Golovashivka of Sumy district, Sumy region) with different technological groups of cattle management. In an experiment were formed five experimental groups of five animals each and one control group. Experimental groups were fed 5 grams of probiotic strains in the following composition per animal: *Bacillus coagulans*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*.

B. coagulans did not promote the growth of lactobacilli 7×10^4 (volumetric datum), but well reduces the number of opportunistic pathogens of the genus *Clostridium* 10^1 , compared with the control group of calves without probiotic 3×10^1 .

B. mucilaginosus contributed to the reproduction of *Lactobacillus* sp. up to 8×10^6 , compared to the control group 1×10^5 . The probiotic inhibited the growth of the genus *Clostridium* below the average 10^1 . Feeding of *B. mucilaginosus* reduced the amount of *Escherichia coli* to 2×10^4 .

B. megaterium has a positive effect on the growth of *Lactobacillus* sp. 5×10^6 , but increases the amount of *Clostridium* 2×10^2 and *Escherichia coli* 6×10^4 , compared with the control group 3×10^1 and 3×10^4 respectively.

B. pumilus promotes the growth and reproduction of lactobacilli 7×10^5 , compared to the control - 1×10^5 . The probiotic does not significantly inhibit the growth of *Clostridium* and *Enterobacteriaceae*. The probiotic does not destroy *Escherichia coli* with hemolytic activity.

B. amyloliquefaciens is not an antagonist for *Clostridium* 2×10^2 and *Escherichia coli* 6×10^4 . *B. amyloliquefaciens* destroys hemolytic *Escherichia coli*, but increases the growth of yeasts to 1×10^2 , staphylococci to 2×10^4 compared with the control group 7×10^1 and 6×10^3 , respectively.

Bacteria *Salmonella* and *Pseudomonas* were not detected in the calves fecal masses of the experimental and control groups, it indicates the well-being of the farm as regards bacterial gastrointestinal diseases. The number of bifidobacteria in all experimental and control groups were detected up to 10^5 . Studies of *Bacillus* sp. probiotic strains prove the partial effectiveness of each of them and give grounds for the creation of a complex probiotic to have an optimum effect for calves.

Key words: probiotic spore-forming strains of *Bacillus* sp., calves, gastrointestinal microflora, cut-chewing, digestion.

Дата надходження до редакції: 20.12.2019 р.