

УДК 619:618.15,19:579.62:636.2

Шуманський Ю.І., к.вет.н. (shumansky@meta.ua)
Федорків О.П., мол.наук. сп. (aliono4ka1984@mail.ru)
Киричук Т.А., пошукач[©]
Тернопільська дослідна станція, Тернопіль, Україна

БІОПЛІВКА У ВЕТЕРИНАРНОМУ АКУШЕРСТВІ – ОСОБЛИВА ОРГАНІЗАЦІЯ ЖИТТЯ

У статті наведені дані про застосування імуностимулюючого препарату для корів у сухостійний період та зміни мікрофлори молочної залози та піхви корів, здатності виділеної мікрофлори формувати мікробну біоплівку. Метою нашої роботи було визначити склад мікрофлори піхви та молочної залози корів у період сухостою при застосуванні імуностимулюючого препарату "СтоГа" та здатність мікрофлори утворювати біоплівку на абіогенних поверхнях. Вивчено здатність мікроорганізмів формувати біоплівки та визначено їх щільність у чашках Петрі, за внесення добової тест-культури бактерій у концентрації 105 КУО/см3, з наступним додаванням 5,0 см3 МПБ та інкубуванням за t 30 °С протягом 24–48 год. Запропоновано оцінювати здатність формувати біоплівки візуально та мікроскопічно, а щільність біоплівок визначати в одиницях, спектрофотометрично, за оптичною густиною промивного розчину спирту — до 0,5 од. низька щільність, від 0,5 до 1 од. — середня, від 1 — висока.

Результати проведеного дослідження показали, що при застосуванні імуностимулюючого препарату в організмі тварини активуються захисні властивості слизових оболонок молочної залози і піхви корів, про що свідчить зростання рівня їх нормальної мікрофлори. Здатність мікроорганізмів утворювати біоплівки на біогенних і абіогенних поверхнях суттєво відрізняється та залежить від виду мікроорганізмів.

Ключові слова: корови, сухостійний період, молочна залоза, піхва, мікрофлора, імуностимулюючі препарати, мікробна біоплівка.

УДК 619:618.15,19:579.62:636.2

Шуманский Ю.И., Федоркив А.П., Киричук Т.А.
Тернопольская опытная станция, Тернополь, Украина

БИОПЛЕНКА В ВЕТЕРИНАРНОМ АКУШЕРСТВЕ - ОСОБЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЖИЗНИ

В статье приведены данные о применении иммуностимулирующего препарата для коров в сухостойных период и изменения микрофлоры молочной железы и влагалища коров, способности выделенной микрофлоры формировать микробную биопленку. Целью нашей работы было определить состав микрофлоры влагалища и молочной железы коров в период сухостоя при применении иммуностимулирующего препарата "Стога" и способность микрофлоры образовывать биопленку на абиогенных поверхностях. Изучено

способность микроорганизмов формировать биопленки и определены их плотность в чашках Петри, за внесение суточной тест-культуру бактерий в концентрации 105 КОЕ / см³, с последующим добавлением 5,0 см³ МПБ и инкубирования по t 30 ° C в течение 24-48 часов. Предложено оценивать способность формировать биопленку визуально и микроскопически, а плотность биопленок определять в единицах, спектрофотометрически, по оптической плотности промывочного раствора спирта - до 0,5 ед. низкая плотность от 0,5 до 1 ед. - Средняя, от 1 - высокая.

Результаты проведенного исследования показали, что при применении иммуностимулирующего препарата в организме животного активируются защитные свойства слизистых оболочек молочной железы и влагалища коров о чем свидетельствует рост уровня их нормальной микрофлоры. Способность микроорганизмов образовывать биопленки на биогенных и абиогенных поверхностях существенно отличается и зависит от вида микроорганизмов.

Ключевые слова: коровы, сухостойных период, молочная железа, влагалище, микрофлора, иммуностимулирующие препараты, микробная биопленка.

UDC 619:618.15,19:579.62:636.2

Shumansky Y.I., Fedorko O.P., Kirichuk T.A.
Ternopil Research Station, Ternopil, Ukraine

BIOFILM IN VETERINARY OBSTETRICS - A SPECIAL ORGANIZATION OF LIFE

The article presents data on the use of immune-boosting drug for cows in the dry period and changes in the microflora of breast and vagina of cows, the ability to form microbial flora isolated bioplivku. The aim of our study was to determine the composition of the microflora of the vagina and breasts dead cows during the application of immunostimulatory drugs "stacks" and the ability of microorganisms to form biofilm on abiogenically poverhnyah. Vyvcheno ability of microorganisms to form biofilms and their density determined in petri dishes by making daily test culture bacteria at a concentration of 105 CFU / cm³, followed by the addition of 5.0 cm³ MPB and incubating for t 30 ° C for 24-48 h. Proposed that the ability to form bioplivkyvizualno and microscopically, and the density of biofilms determine in units spectrophotometer, the optical density of wash solution of alcohol - up to 0.5 units. low density of 0.5 to 1 unit. - average, 1 - high.

Results of the study showed that the application of immunostimulatory drugs in the animal activated the protective properties of the mucous membranes of breast and vagina cows as evidenced by the growth of their normal microflora. The ability of microorganisms to form biofilms on the surfaces of biogenic and abiogenic significantly different and depends on the type of microorganisms.

Key words: cows, dry period, breast, vagina, microflora, immune-boosting drugs, microbial biofilm.

Вступ. У структурі акушерсько-гінекологічної патології 60-80% займають запальні захворювання. Важливу роль у виникненні запальних процесів як статевої сфери так і молочної залози відіграє мікрофлора. У піхві міститься

велика кількість мікроорганізмів, багато з яких знаходяться в співдружності. Внаслідок порушення нормальної мікрофлори виникають різні запальні процеси, що призводить до їх хронізації та виникнення неплідності [2,9]. Для боротьби із даними захворюваннями використовують антимікробні препарати різних груп і, незважаючи на великий вибір і широкий спектр антимікробної дії останніх, питання ефективності лікування залишається актуальним [7]. Одним із пояснень низького ефекту від застосування антибіотиків є утворення мікроорганізмами мікробних біоплівки. Така організація забезпечує її фізіологічну і функціональну стабільність і, отже, є запорукою конкурентного виживання в екологічній ніші [1].

Важливо звернути увагу на те, що у формуванні всіх унікальних структур біоплівки безпосередня роль належить самому організму. Коли слабшає імунний захист під час хвороби, при імунних порушеннях пошкоджується і сама біоплівка [3,8].

Метою нашої роботи було визначити склад мікрофлори піхви та молочної залози корів у період сухостою при застосуванні імуностимулюючого препарату "СтоГа" та здатність мікрофлори утворювати біоплівку на абіогенних поверхнях.

Матеріали і методи. У господарстві "Агропродсервіс Інвест" Козівського району Тернопільської області були відібрані дві дослідні і одну контрольну групи (n=10). Коровам першої дослідної групи випоювали в день отелення "СтоГа" в дозі 500 мл., а коровам другої вводили його підшкірно у дозі 10 мл.

У даних тварин відбір проб молока і секрету молочної залози, змиви із статевих органів корів, доставку їх в лабораторію та мікробіологічні дослідження проводили згідно з визнаними та існуючими на даний час методичними рекомендаціями [6]. Родову ідентифікацію виділених культур проводили згідно з дев'ятим виданням визначника бактерій Берджі [5].

Для вивчення здатності мікроорганізмів формувати біоплівки та визначення їх щільності використовували стерильні одноразові пластикові чашки Петрі [1]. Мікроскопічні дослідження сформованих біоплівок бактеріями на мікроскопі Micromed XS-4130, фото фіксували на камері Micromed 5,0 MegaCmos. Отримані результати досліджень обробляли статистично з використанням програм Microsoft Excel I Statistika 99. Різницю вважали вірогідною за $P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$ і $P \leq 0,001$ [4].

Результати досліджень.

За даними, наведеними у таблиці 1, видно, що після застосування імуномодельюючого препарату методом випоювання як в секреті молочної та у змивах із піхви зміни складу мікрофлори були несуттєвими, що свідчить про недоцільність застосування препарату таким шляхом. Після підшкірного введення "СтоГа" у мікрофлорі молочної залози знизилась кількість мікроорганізмів *Lactobacillus* spp. у 1,3 раза ($P \leq 0,05$), *Enterobacter* spp., *E. coli* у 4,0 раза ($P \leq 0,01$), зросла кількість бактерій *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Micrococcus* spp. у 1,9 раза ($P \leq 0,01$), порівняно з введенням препарату, що

свідчить про підвищення захисних властивостей молочної залози та відновлення нормальної мікрофлори.

Таблиця 1.

Вміст мікрофлори в молочній залозі та піхві корів дослідної групи до та після застосування препарату “СтоГа”, $M \pm m, n=10$

Види мікроорганізмів	Молочна залоза			Піхва		
	до введення %	після випоювання %	Після введення підшкірно %	до введення %	після випоювання, %	після введення підшкірно %
Lactobacillus spp.	52,6	52,8	39,2*	26,9	27,1	54,6**
Enterobacterspp., E. Coli	5,3	5,6	1,2**	34,6	34,8	24,7*
Staphylococcus spp, Micrococcus spp.	23,7	25,6	48,5**	23,9	22,7	15,3*
дріжджові грибки	7,9	3,5*	-	3,1	2,9	-
Corynebacterium spp.	10,5	11,3	11,1	11,5	12,5	5,4**

Примітка: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$ – порівняно з введенням препаратів.

У змивах із піхви корів зросла кількість мікроорганізмів Lactobacillus spp. у 1,8 рази ($P \leq 0,01$), знизилась кількість Enterobacterspp., E. coli у 1,2 рази ($P \leq 0,05$), Staphylococcus spp, Micrococcus spp. у 1,4 рази ($P \leq 0,05$), Corynebacterium spp. у 2,1 рази ($P \leq 0,01$) порівняно з введенням препарату. Дані результати вказують на підвищення резистентності слизової оболонки піхви і відновлення нормальної мікрофлори та активніший процес утворення біоплівки корисною мікрофлорою для захисту слизової.

Для визначення можливості мікроорганізмів із молочної залози та піхви корів формувати біоплівки на абіогенних поверхнях, ми після інкубації провели мікроскопію чашок із сформованою біоплівкою (Рис.1).

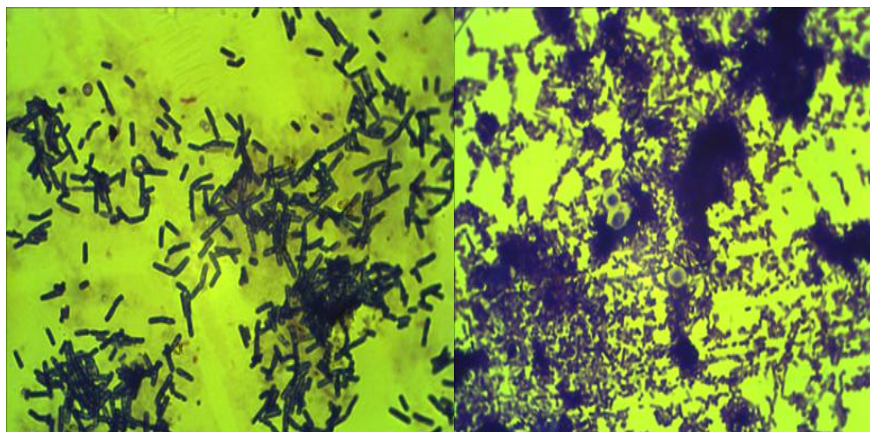


Рисунок 1. Lactobacillus spp. у вільному стані та у біоплівці (з права)

Дані щодо оптичної щільності біоплівки виділених культур наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Щільність мікрофлори, виділеної з молочної залози та піхви корів дослідної групи до та після застосування препарату “СтоГа”, $M \pm m, n=10$

Види мікроорганізмів	Щільність біоплівки, од	
	До введення	Після введення
Lactobacillus spp.	0,82	0,79
Enterobacter spp., E. Coli	1,24	1,13
Staphylococcus spp.	1,58	1,61
Corynebacterium spp.	1,22	1,19

Примітка: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$ – порівняно з введенням препаратів.

З літературних даних відомо, що при підвищенні імунітету можливість нормальної мікрофлори утворювати біоплівку на слизових оболонках організму підвищується, про що свідчило, за нашими дослідженнями, зростання рівня нормальної мікрофлори. Та можливість утворювати біоплівку нормальної мікрофлори слизових на абіогенних поверхнях ускладнена. Натомість патогенні та умовно-патогенні мікроорганізми утворюють щільну біоплівку при будь-яких умовах.

Висновки.

1. Застосування препарату “СтоГа” методом випоювання не впливає на стан мікрофлори молочної залози та піхви корів.

2. Після підшкірного введення імуностимулюючого препарату відбулися зміни результати яких вказують на підвищення захисних властивостей молочної залози, підвищення резистентності слизової оболонки піхви та відновлення нормальної мікрофлори.

3. Щільність утворення біоплівки мікроорганізмами, виділеними із слизових оболонок, залежить від виду мікроорганізму та середовища.

Перспектива подальших досліджень. З'ясувати особливості формування біоплівок мікроорганізмів на слизових оболонках молочної залози та піхви корів для корекції нормальної мікрофлори та запобігання акушерсько-гінекологічної патології.

Література

1. Вознесенский И. А. Биопленки - терапевтическая мишень при хронических инфекциях / И. А. Вознесенский // Атмосфера, пульмонология и аллергология. - 2008. - № 3. - С. 15-18.

2. Дубинин А.В. Трофические и регуляторные связи макроорганизма и микрофлоры / А.В. Дубинин, В.Н. Бабин, П.М. Раевский // Клини. мед. – 1991. – №7. – С. 24-28.

3.Заславская Н. В. Выживаемость бактерий, растущих диффузно и образующих газон, в присутствии гентамицина и ионов металлов / Н. В. Заславская, В. В. Тец // Труды РАЕН. - 2000. - С. 77-82.

4.Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин //. – М.: Высшая школа. – 1990. – 351 [1] с.

5.Определитель бактерий Берджи / Перевод с английского Ред. Дж. Хоулт. и др. – М.: Мир. – Том2. – 1997. – 537с

6.Рекомендації щодо санітарно-мікробіологічного дослідження змивів з поверхонь тест-об'єктів та об'єктів ветеринарного нагляду і контролю методичні рекомендації / [Якубчак О.М., Хоменко В.І, Мідик С.В. та ін.]. – Київ.– 2005. – 18 с.

7.Тец Г. В. Совместное действие антибиотиков и дезоксирибонуклеазы / Г. В. Тец, К. А. Артеменко // Антибиотики и химиотерапия. - 2006. - Т. 51, № 6. - С. 3-6.

8.Чеботарь И. В. Новый метод количественного учета кокков в надклеточных образованиях - кластерах и биопленках / И. В. Чеботарь, Е. А. Таланин, Е. Д. Кончакова // Современные технологии в медицине. - 2010. - № 3. – С 14-17.

9.Draiton D.L. Lymphoid organ development: from ontogeny to neogenesis/D.L. Draiton, S.Liao, R.H.Mounzer, N.H.Ruddle // Nature immunology.– 2006. – V. 7, N 3. – P. 344-353.

Рецензент – д.вет.н., професор Стефаник В.Ю.