



Чутливість до антибактеріальних препаратів штамів *Bacillus spp.* з високим рівнем антагоністичної активності для виготовлення пробіотиків

О. М. Чечет, В. Л. Коваленко, О. І. Горбатюк, Н. В. Курята,
Г. А. Бучковська, І. В. Мусієць, Л. В. Шалімова, Д. О. Ординська,
Л. В. Баланчук, Н. В. Щур, Л. В. Тогачинська
goroliva@ukr.net



Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

ORCID:

O. M. Chechet <https://orcid.org/0000-0001-5099-5577>
V. L. Kovalenko <https://orcid.org/0000-0002-2416-5219>
O. I. Horbatiuk <https://orcid.org/0000-0002-0573-2089>
N. V. Kuryata <https://orcid.org/0000-0002-6958-1064>
G. A. Buchkovska <https://orcid.org/0009-0007-4449-614X>
I. V. Musiets <https://orcid.org/0000-0002-2456-560X>
L. V. Shalimova <https://orcid.org/0000-0003-1159-7159>
D. O. Ordynska <https://orcid.org/0000-0003-3481-3248>
L. V. Balanchuk <https://orcid.org/0000-0003-0989-5886>
N. V. Shchur <https://orcid.org/0000-0002-3033-8139>
L. V. Togachynska <https://orcid.org/0009-0005-5032-5940>

Authors' Contributions:

COM: Project administration; Conceptualization; Methodology; Supervision; Formal analysis; Writing — review & editing.

KVL: Methodology; Writing — original draft.

HOI: Investigation; Data curation; Formal analysis.

KNV: Methodology; Data curation; Writing — original draft.

BGA: Conceptualization; Methodology; Data curation; Investigation.

MIV: Methodology; Investigation; Data curation; Writing — original draft.

SLV: Investigation; Writing — original draft.

ODO: Investigation; Data curation; Visualization.

BLV: Investigation; Data curation.

SNV: Methodology; Investigation; Data curation.

TLV: Methodology; Investigation; Data curation.

Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

Ethical approval:

Not applicable.

Acknowledgements:

The research was carried out on a scientific research topic "Development of new and improvement of existing approaches, methods and means of monitoring and laboratory research (testing) of safety indicators and individual quality indicators of objects of sanitary measures, by-products of animal origin, feed additives, premixes, feed, soil and water" (state registration no. 0118U100597).



Attribution 4.0 International
(CC BY 4.0)

Розвиток органічного тваринництва, зокрема птахівництва, на який націлена Україна, потребує кардинальної зміни підходів щодо профілактики та лікування інфекційних захворювань. Макроорганізм і мікробіота шлунково-кишкового тракту становлять єдину екологічну систему з гомеостатичною рівновагою. Проте її порушення загрожує виникненням у птиці дисбалансу нормофлори кишечника і розвитку захворювань бактеріальної етіології. З огляду на це зростає потреба у розробці та застосуванні пробіотичних препаратів. Високий антагоністичний потенціал бактерій роду *Bacillus* щодо інших патогенів викликає науковий і виробничий інтереси щодо розробки пробіотиків з залученням їх до складу означених бактерій як альтернативи антибіотикам. Але через наявність ризиків прямої передачі R-плазмід антибіотикорезистентності біотичній мікрофлорі шлунково-кишкового тракту разом з пробіотичними штамами за набуття нею резистентності, перспективні штами бактерій роду *Bacillus* повинні бути перевірені на чутливість до антибіотичних препаратів. Відібрані нами перспективні пробіотичні з високим рівнем антагонізму штами *Bacillus subtilis* Bs-5 і Bs-9, *Bacillus licheniformis* Bfl-1 і Bfl-4, *Bacillus coagulans* Bcg-5, *Bacillus amyloliquefaciens* Baf-1 і Baf-3 проявляли повну чутливість до застосованих антибіотиків — представників груп карбапенемів, фторхінолонів, глікопептидів, лінкозамідів, макролітів та оксазолонів. Ці штами були рекомендовані як пробіотичні, антибіотикочутливі, безпечні, перспективні для використання у конструюванні пробіотичних препаратів. Одержані результати лабораторних досліджень інших штамів *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens* засвідчили присутність серед них бактерій, полірезистентних до антибіотиків груп фторхінолонів, карбапенемів, макролідів і глікопептидів.

Ключові слова: антибіотикорезистентність, антагоністична активність, пробіотичні штами, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus amyloliquefaciens*

Вступ

В сучасному світі здоровий спосіб життя декларується у країнах ЄС, США, інших розвинених країнах світу, зокрема і в Україні. Означений напрямок зведений до державної політики із головними завданнями — збереженням суспільного здоров'я та віковим продовженням життя населення країн через функціональне харчування якісною сільськогосподарською продукцією, зокрема продуктами птахівничої галузі завдяки одержанню чистої, екологічно безпечної продукції птахівництва [11–13, 18, 22].

Нині у птахівничій галузі України пріоритетним є розвиток органічного птахівництва. Тому у лікуванні і профілактиці інфекційних захворювань птиці спостерігають тенденцію до зростання потреб у застосуванні засобів біологічної терапії, зокрема пробіотиків [2, 7, 19].

На ринку біологічно активних препаратів в Україні переважають пробіотики, виготовлені на основі лакто- і біфідобактерій [1, 30]. Проте на сучасному етапі розвитку антибактеріальної терапії приділяють надважливу увагу вивченню методів знешкодження бактеріальних інфекцій за допомогою використання непатогенних пробіотичних спороутворювальних мікроорганізмів. Особливий інтерес привертають бактерії роду *Bacillus*. З'ясовано, що ці бактерії є найстійкішими до несприятливих умов зовнішнього середовища, здатні проявляти високий рівень антагонізму і виживати навіть у надто несприятливих умовах довкілля. Встановлено, що бактерії роду *Bacillus* є продуцентами широкого спектру біологічно активних сполук — антибіотичних, сполук з бактеріостатичним ефектом, тих, які посилюють неспецифічні фактори імунітету за допомогою активації макрофагів, сприяють прояву комплексної запальної дії і забезпечують знешкодження своїх конкурентів — патогенних мікроорганізмів [37]. Бактерії роду *Bacillus* продукують сполуки з позитивним впливом на фактори специфічного імунітету через підвищення рівня IgA і IgG. В шлунково-кишкового тракту означені бактерії завдяки продукції власних різних ферментів поліпшують кількісне зростання нормофлори [6, 15, 26].

Відомо, що *Bacillus subtilis* є продуцентом поверхнево-активних речовин (ПАР) — ліпопептиду сурфактану, який доповнює та посилює антибактеріальну дію, забезпечує гемолізис, утворює іонні канали у ліпідних мембранах. З'явилися повідомлення про продукцію *B. subtilis* поліпептидів: ліпопептиду №1, який здійснює активний антибактеріальний вплив на спорові мікроорганізми та ліпопептиду ітуруну, який проявляє антибактеріальну дію і підвищує електропровідність ліпідів у клітинних мембранах. Продукція таких речовин забезпечує бактеріям *B. subtilis* здатність проявляти високий активний антагонізм [5]. До того ж вони мають перевагу в колонізації нових середовищ та конкуренції за субстрати з іншими патогенними мікроорганізмами, зокрема і в заселенні шлунково-кишкового тракту птиці [16, 22].

Проте на фоні прояву власних високих антагоністичних властивостей бактерій роду *Bacillus* з'являється інша проблема, яка полягає у здатності цих бактерій до швидкої передачі інформації щодо їх антибіотикостійкості через горизонтальну передачу генів. Гени стійкості передаються горизонтально дочірнім клітинам бактерій *Bacillus*, які надалі створюють стійку антибіотикорезистентну популяцію. Стійкість до конкретного антибіотика визначають R-плазмідиди; серед них є кон'югативні, трансмісивні, здатні передавати резистентність від одного бактерійного штаму до іншого в межах виду, різних видів і родів мікробів [3, 9, 14].

Актуальним питанням у розробці пробіотичних препаратів є вивчення антибіотикорезистентності складових пробіотичних штамів бактерій для запобігання передачі резистентності мікробіоті шлунково-кишкового тракту людини, тварин, птиці після застосування пробіотика [28, 34, 38].

Метою роботи було провести скринінг щодо антибіотикорезистентності високоантагоністичних штамів бактерій роду *Bacillus*, виділених від птиці із різних регіонів України, з перспективою їх застосування для конструювання пробіотичних препаратів.

Матеріали і методи

Експериментальні дослідження проведено на базі лабораторії діагностики захворювань бактеріальної етіології (ЛДЗБЕ) Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ), м. Київ.

Для контролю якості живильних середовищ, їх стерильності та якості дисків з антибіотиками використовували тестові культури *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* ATCC 11778, одержані із Музею тестових культур мікроорганізмів ЛДЗБЕ ДНДІЛДВСЕ. Тестові культури *S. aureus* і *B. cereus* зберігали у криогенізованому стані в морозильній камері за температури $-70,0 \pm 10,0^\circ\text{C}$, в криогенних пробірках з криогранулами (*CRYO-Billes*). Для відновлення метаболічних процесів *S. aureus* і *B. cereus* із криогенного стану відповідні криогранули переносили в пробірки з триптон-соевим бульйоном (ТСБ) і культивували за температури $37,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ впродовж 24 год. Після закінчення терміну інкубації тестові культури пересівали на триптон-соевий агар (ТСА), культивували в термостаті за температури $37,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ впродовж 24 год. Відновлені тестові культури мікроорганізмів *S. aureus* і *B. cereus* після перевірки на відповідність основним типовим властивостям були допущені до проведення відповідних контролів (*Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, версія 12.0, 2022).

Для відновлення метаболічних процесів у криогенізованих тестових культур з метою їх подальшого використання у дослідках виготовляли ТСБ (*HiMedia M002 Nutrient Broth*); ТСА (*HiMedia M109-100G Tryptone*).

Soya Agar w/Yeast Extract and Hemin). Для повсякденного контролю якості дисків антибіотиків та постановки основного дослідження з визначення чутливості до антибіотиків для правильної інтерпретації результатів використовували агар Мюллера-Хінтона (МХА) (*HiMedia M1825R M173/M1084*).

В дослідженнях з визначення стійкості дослідних ізолятів бактерій роду *Bacillus* до антибіотичних препаратів застосовували антибіотики: іміпенем (10 мкг), меропенем (10 мкг) — група карбапенемів; ципрофлоксацин (6 мкг), левофлоксацин (6 мкг), норфлоксацин (10 мкг) — група фторхінолонів; ванкомицин (6 мкг) — група глікопептидів; еритроміцин (16 мкг) — група лінкозамідів; кліндаміцин (2 мкг) — група макролідів; лінезолід (10 мкг) — група оксазолідонів. Всі диски з антибіотиками виробництва *Himedia Laboratories Pvt. Limited* (Індія) з відповідними термінами придатності. Диски зареєстровані в Україні та відповідають міжнародним стандартам якості ISO, CE, WHO GMP (*Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, версія 12.0, 2022) [36].

Для одержання вірогідних результатів за досліджень на стійкість до антибіотиків бактерій роду *Bacillus* проводили повсякденний контроль якості дисків з антибіотиками із використанням тестової культури *S. aureus* як індикатора. За перевірки на антибіотикочутливість бактерій роду *Bacillus* встановлено, що величини зон інгібування росту за використання як індикатора тестової культури *S. aureus* (EUCAST Version 12.0, 2022) були в межах діапазону допустимих значень, тому надалі диски з антибіотиками допускали до постановки основного дослідження.

Дослідження на чутливість до антибіотичних препаратів провели з 31 штамом роду *Bacillus*, виділеним із патологічного матеріалу від птиці із господарств різних регіонів України, зокрема із 13 штамми *B. subtilis* (Bs-1, Bs-2, Bs-3, Bs-4, Bs-5, Bs-6, Bs-7, Bs-8, Bs-9, Bs-10, Bs-11, Bs-12, Bs-13); 6 штамми *B. licheniformis* (Bfl-1, Bfl-2, Bfl-3, Bfl-4, Bfl-5, Bfl-6); 8 штамми *B. coagulans* (Bcg-1, Bcg-2, Bcg-3, Bcg-4, Bcg-5, Bcg-6, Bcg-7, Bcg-8); 4 штамми *B. amyloliquefaciens* (Baf-1, Baf-2, Baf-3, Baf-4).

Застосовано прямий метод виготовлення бактеріальних суспензій пробіотичних штамів мікроорганізмів. Для цього стерильною бактеріологічною петлею відбирали кілька типових (морфологічно схожих) колоній добових (24 год. культивування) культур відповідних штамів, вносили до стерильного фізіологічного розчину, ретельно перемішуючи. Щільність досліджуваних бактеріальних суспензій вимірювали, порівнюючи візуально зі стандартом каламутності 0,5 standard Мак-Фарланда з використанням шаблону.

Мікроскопічним методом одночасно контролювали чистоту росту всіх досліджуваних пробіотичних штамів бацил.

Диско-дифузійним методом проводили постановку основного дослідження на виявлення стійких до антибіотиків пробіотичних штамів досліджуваних бактерій роду

Bacillus. Виготовлені бактеріальні суспензії пробіотичних штамів мікроорганізмів інокулювали на чашки з МХА. Через 15 хв. після інокуляції чашок на поверхню агару наносили диски з антибіотиками, маркували, термостатували відразу, оскільки тримання засіяних чашок з дисками за кімнатної температури впливає на одержання вірогідних результатів. Для рівномірного прогрівання чашок з посівами і точності обліку результатів формували стоси чашок по 5 штук у кожному. Режим інкубації проходив за температури $35 \pm 1^\circ\text{C}$ за звичайної атмосфери з терміном культивування 20 год. Поряд ставили контроль росту дослідних пробіотичних мікроорганізмів без накладання дисків з антибіотиками.

Перед початком обліку результатів дослідження перевіряли сформованість газону за візуально рівномірного суцільного росту бактерій роду *Bacillus* у чашках з контролями росту. Зона інгібування росту дослідних штамів роду *Bacillus* була чіткою, візуально видимою, без наявності будь-якого росту колоній в її межах. Облік результатів проводили, вимірюючи діаметри зон затримки росту навколо диска з відповідним антибіотиком, які визначали візуально за розміщення чашки на відстані близько 30 см від очей. Для вимірювання зон затримки росту чашку Петрі з закритою кришкою розміщували дном доверху над темною матовою поверхнею так, щоб світло падало під кутом 45° — ефект відбитого світла. Вимірювання зон пригнічення росту проводили з точністю до найближчого міліметра за допомогою штангенциркуля. Інтерпретацію результатів проводили згідно з чинною версією EUCAST (*Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, версія 12.0, 2022), порівнюючи одержані значення діаметрів зон інгібування росту дослідних культур із допустимими межами чутливості, представленими у нормативах EUCAST [36].

Усі дані аналізували за допомогою програми *Statistica 8.0* (*StatSoft Inc.*, США). Результати в таблицях демонструються як $\bar{x} \pm SE$ (середнє значення \pm стандартна похибка). Відмінності між значеннями вважали вірогідними за $P < 0,05$ (*AStA Advances in Statistical Analysis*, версія 8) [37].

Результати й обговорення

Ми випробували досліджувані штами *B. subtilis* на стійкість до антибіотиків. Аналіз результатів випробувань у цьому напрямку показав, що, попри дуже високі антагоністичні властивості, більшості досліджуваним штамом *B. subtilis* була притаманна антибіотикорезистентність. Із 13 дослідних ізолятів *B. subtilis* як антибіотикочутливі вдалося відібрати лише 2 штами — Bs-5 і Bs-9. В означених штамів з високими антагоністичними властивостями щодо грамнегативних та грампозитивних тестових культур за визначення антибіотикочутливості, всі показники діаметрів зон інгібування росту були в діапазоні значень, які засвідчували чутливість до застосованих

груп препаратів [5]. Тому штами *B. subtilis* Bs-5 і Bs-9 були визначені як чутливі до антибіотиків та відібрані для подальшої роботи як перспективні і безпечні пробіотичні бактерії для конструювання біологічних препаратів.

Відібрані антагоністично активні штами Bs-6 і Bs-11 виявилися досить чутливими до впливу антибіотичних препаратів, проте у них виявлено моноантибіотикорезистентність до еритроміцину та цiproфлoксацину відповідно.

У досліджуваних високоантагоністично активних штамів Bs-1, Bs-2 антибіотикорезистентність була виявлена до двох антибіотиків без жодної закономірності, оскільки штам *B. subtilis* Bs-1 був резистентним до представників карбапенемів, Bs-2 — до еритроміцину і ванкоміцину.

Про резистентність до ванкоміцину штаму *B. subtilis* Bs-2 свідчив показник діаметру зони інгібування росту на рівні $8,7 \pm 0,7$ мм. Оскільки ванкоміцин є антибіотиком четвертого покоління з високим антибактеріальним ефектом, поява стійких до його дії бактерій *B. subtilis* спричиняє занепокоєння щодо передачі резистентності іншим мікроорганізмам популяції або іншим видам бактерій. Тим паче, штам *B. subtilis* Bs-2 був виділений із патматеріалу від птиці, що вказує на ймовірну циркуляцію таких бактерій у самому господарстві.

Всі інші штами *B. subtilis* з високим рівнем антагонізму за одержаними результатами досліджень виявилися поліантибіотикорезистентними і проявляли резистентність від 3 до 6 різновидів антибіотиків груп карбапенемів, фторхінолонів, лінкозамідів, макролідів, оксазолідонів (табл. 1).

За аналізом результатів досліджень було з'ясовано, що серед 6 штамів *B. licheniformis* з високими антагоністичними властивостями два із них — штами Bfl-1 і Bfl-4 — проявляли чутливість до основних груп анти-

біотичних препаратів, що підтверджували величини діаметрів зон інгібування росту, які були в діапазоні значень чутливості щодо застосованих груп антибіотиків. *B. licheniformis* штам Bfl-3 проявляв резистентність до іміпенему. Всі інші штами *B. licheniformis* за результатами випробувань виявилися поліантибіотикорезистентними, оскільки показники діаметрів зон інгібування росту були нижчими за граничну межу чутливості (табл. 2).

Візуалізацію досліджень високоантагоністичних штамів *B. coagulans* на стійкість до антибіотиків представлено на рис.

За показниками діаметрів зон інгібування росту після бактерицидної дії антибіотиків усім штамам *B. coagulans*, окрім Bcg-5, була притаманна поліантибіотикорезистентність до представників груп карбапенемів, фторхінолонів, лінкозамідів. Найчастіше виявляли стійкість до антибіотиків меропенему, цiproфлoксацину, левофлoксацину, еритроміцину у *B. coagulans* штами Bcg-1, Bcg-3, Bcg-4, Bcg-6, Bcg-7, Bcg-8. До того ж у штамів *B. coagulans* Bcg-1, Bcg-3, Bcg-7 та Bcg-8 виявлено стійкість до ванкоміцину.

Щодо високоантагоністичного *B. coagulans* штаму Bcg-5, то показники діаметрів зон інгібування росту були в діапазоні значень, які підтверджували чутливість до антибактеріальних препаратів. Тому означений штам був відібраний як пробіотичний, антибіотикочутливий, безпечний та перспективний для конструювання пробіотичних препаратів (табл. 3).

За аналізом одержаних результатів досліджень з вивчення стійкості до антибіотиків 4 високоантагоністичних штами *B. amyloliquefaciens*, серед яких пробіотичні штами Vaf-2 і Vaf-4, проявляли поліантибіотикорезистентність до представників груп карбапенемів, фторхінолонів, лінкозамідів. Це підтверджували величини діаметрів зон інгібування росту досліджуваних культур за дії антибіотиків.

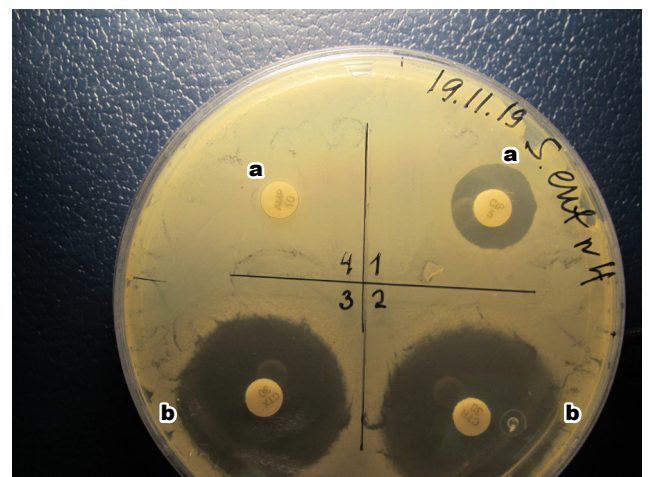
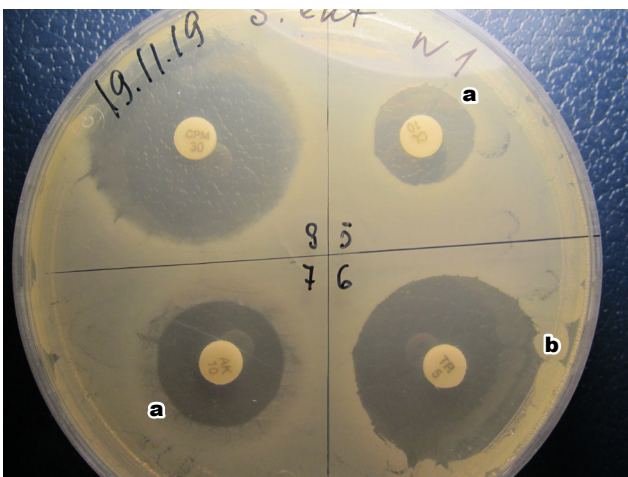


Рис. Візуалізація результатів досліджень з визначення чутливості до антибіотиків різних класів пробіотичного штаму *Bacillus coagulans* Bcg-4. а — штами, резистентні до антибіотиків; б — штами, чутливі до антибіотиків
Fig. Visualization of the results of studies on the determination of sensitivity to antibiotics of different classes probiotic strain *Bacillus coagulans* Bcg-4. a — strains resistant to antibiotics; b — strains sensitive to antibiotics

Таблиця 1. Стійкість штамів *Bacillus subtilis* до основних груп антибіотиків
Table 1. Resistance of *Bacillus subtilis* strains to the main groups of antibiotics

Антибіотик Antibiotic	Згідно з EUCAST According to EUCAST		Зони інгібування росту, мм: of growth inhibition zones, mm:												
	діаметри зон інгібування росту, мм zone diameters growth inhibition, mm		досліджувані штами <i>Bacillus subtilis</i> : research strains of <i>Bacillus subtilis</i> :												
	Ч≥ S≥	Р< R<	Bs-1	Bs-2	Bs-3	Bs-4	Bs-5	Bs-6	Bs-7	Bs-8	Bs-9	Bs-10	Bs-11	Bs-12	Bs-13
Іміпенем Imipenem	30,0	30,0	28,0±0,3	30,3±0,3	30,3±0,3	30,3±0,3	30,7±0,7	30,3±0,3	31,7±0,7	27,0±0	32,3±0,3	30,0±0,7	30,0±0	30,7±0,7	30,3±0,3
Меропенем Meropenem	25,0	25,0	24,0±0,7	25,7±0,3	24,3±0,3	24,7±0,7	26,3±0,3	25,3±0,3	25,0±0	25,7±0,7	26,3±0,3	23,0±0,7	26,0±0,7	25,3±0,3	26,0±0,7
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	50,0	23,0	23,0±0,7	23,7±0,3	22,3±0,3	22,3±0,3	25,0±0,7	23,3±0,3	21,0±0,7	23,3±0,3	23,3±0,3	22,7±0,7	21,0±0,7	20,3±0,7	21,0±0,7
Левофлоксацин Levofloxacin	50,0	23,0	23,0±0,3	23,7±0,3	20,0±0,7	20,3±0,3	24,3±0,3	23,3±0,3	20,0±0	23,7±0,7	24,0±0,7	23,7±0,3	23,0±0,7	21,0±0,7	20,3±0,3
Норфлоксацин Norfloxacin	21,0	21,0	21,0±0,7	21,3±0,7	21,3±0,3	20,0±0	24,3±1,0	21,0±0,7	19,0±0,7	20,3±0,3	24,3±0,3	20,0±0,7	22,0±0,7	18,7±0,3	18,0±0,7
Ванкоміцин Vancomycin	10,0	10,0	10,0±0,3	8,7±0,7	10,0±0,7	10,3±0,3	11,7±1,0	10,3±0,3	10,3±0,3	10,0±0	13,3±1,0	10,0±0,7	10,3±0,3	10,3±0,3	10,0±0,7
Еритроміцин Erythromycin	24,0	24,0	24,3±0,3	21,7±0,3	21,7±1,0	21,7±0,3	25,0±0	23,0±0,7	26,0±0,7	23,7±1,0	25,0±0,7	23,7±0,3	24,0±0,7	22,0±0,7	28,7±1,0
Кліндаміцин Clindamycin	17,0	17,0	17,3±0,3	17,3±0,3	17,0±0,3	17,3±0,3	19,3±0,3	17,0±0,3	17,3±0,3	18,3±1,0	18,0±0,7	17,0±0,7	18,0±0,7	15,3±0,3	17,0±0,7
Лінезолід Linezolid	22,0	22,0	22,3±0,3	22,0±0	21,7±1,0	21,0±0,7	24,7±0,3	22,0±0,7	22,0±0,7	23,3±0,3	24,3±0,3	—	—	—	—

Таблиця 2. Стійкість штамів *Bacillus licheniformis* до основних груп антибіотиків
Table 2. Resistance of *Bacillus licheniformis* strains to the main groups of antibiotics

Антибіотик Antibiotic	Згідно з EUCAST According to EUCAST		Діаметри зон інгібування росту, мм: Diameters of growth inhibition zones, mm:					
	діаметри зон інгібування росту, мм zone diameters growth inhibition, mm		досліджувані штами <i>Bacillus licheniformis</i> : research strains of <i>Bacillus licheniformis</i> :					
	Ч≥ S≥	Р< R<	Bfl-1	Bfl-2	Bfl-3	Bfl-4	Bfl-5	Bfl-6
Іміпенем / Imipenem	30,0	30,0	37,7±0,3	30,0±0,7	29,0±0,7	32,3±0,3	28,3±1,3	31,3±1,0
Меропенем / Meropenem	25,0	25,0	26,3±0,3	24,3±0,7	25,0±0,7	26,3±0,3	24,3±0,3	26,2±0,2
Ципрофлоксацин / Ciprofloxacin	50,0	23,0	23,7±0,7	20,5±0,3	24,7±0,3	26,3±1,0	25,0±1,0	22,7±0,3
Левовфлоксацин / Levofloxacin	50,0	23,0	23,2±0,2	21,2±0,3	26,7±1,0	25,7±0,3	24,7±0,3	20,3±1,0
Норфлоксацин / Norfloxacin	21,0	21,0	22,3±0,7	21,3±0,3	25,2±0,2	29,0±0	19,3±0,7	21,8±0,5
Ванкоміцин / Vancomycin	10,0	10,0	12,7±0,3	9,3±1,0	10,0±0,7	13,3±0,3	12,0±0,7	10,5±0,3
Еритроміцин / Erythromycin	24,0	24,0	26,7±0,7	24,0±0	26,3±1,0	26,3±1,0	26,7±1,0	23,3±0,7
Кліндаміцин / Clindamycin	17,0	17,0	18,3±0,7	15,6±1,0	17,3±1,0	19,2±0,2	16,3±0,3	15,7±0,3
Лінезолід / Linezolid	22,0	22,0	24,7±0,3	22,0±0,7	26,3±1,0	23,3±1,0	23,0±0,7	19,3±0,3

Таблиця 3. Стійкість штамів *Bacillus coagulans* до основних груп антибіотиків
Table 3. Resistance of *Bacillus coagulans* strains to the main groups of antibiotics

Антибіотик Antibiotic	Згідно з EUCAST According to EUCAST		Діаметри зон інгібування росту, мм: Diameters of growth inhibition zones, mm:							
	діаметри зон інгібування росту, мм zone diameters growth inhibition, mm		досліджувані штами <i>Bacillus coagulans</i> : research strains of <i>Bacillus coagulans</i> :							
	Ч≥ S≥	Р< R<	Bcg-1	Bcg-2	Bcg-3	Bcg-4	Bcg-5	Bcg-6	Bcg-7	Bcg-8
Іміпенем / Imipenem	30,0	30,0	31,2±0,5	30,3±1,0	28,3±0,3	30,0±0,7	39,0±0,7	33,5±0,3	28,7±0,3	27,5±0,3
Меропенем / Meropenem	25,0	25,0	22,3±0,7	24,2±0,2	22,7±0,3	23,3±0,3	26,0±0,7	28,0±0	25,5±0,3	23,0±0,2
Ципрофлоксацин / Ciprofloxacin	50,0	23,0	22,0±1,3	27,2±0,5	22,3±1,0	25,6±0,3	24,0±1,0	21,2±0,5	23,3±0,3	21,0±0,7
Левовфлоксацин / Levofloxacin	50,0	23,0	20,8±0,2	22,0±0,7	19,7±0,2	26,0±0,7	26,0±0,2	20,5±0,3	21,5±0,3	24,5±0,7
Норфлоксацин / Norfloxacin	21,0	21,0	20,0±0,7	23,2±0,2	26,0±0,7	24,6±0,3	29,0±0,7	20,3±0,3	19,5±0,3	26,0±0,7
Ванкоміцин / Vancomycin	10,0	10,0	8,8±0,2	11,3±0,3	8,8±0,5	10,3±0,3	19,8±0,5	10,7±0,2	9,0±0,7	7,5±0,3
Еритроміцин / Erythromycin	24,0	24,0	22,0±0	22,3±0,3	25,5±0,3	22,0±0,7	26,5±0,3	22,7±0,3	22,3±0,3	24,0±0,2
Кліндаміцин / Clindamycin	17,0	17,0	18,0±0,7	17,5±0,3	17,3±0,3	15,7±0,3	25,8±0,2	15,7±0,3	17,5±0,3	17,0±0,2
Лінезолід / Linezolid	22,0	22,0	26,0±0,7	22,0±0,7	22,2±0,2	19,0±0,2	23,0±0,2	22,7±0,3	23,5±0,3	23,5±0,3

У *B. amyloliquefaciens* штамів Baf-1 і Baf-3 виявили чутливість до всіх застосованих груп антибактеріальних препаратів. Одержані величини діаметрів зон інгібування росту у згаданих досліджуваних штамів були в межах показників негативного тесту на антибіотикорезистентність. Тому штами *B. amyloliquefaciens* Baf-1 і Baf-3 визначені як пробіотичні, антибіотикочутливі, безпечні та перспективні для конструювання пробіотиків (табл. 4).

Таким чином, пробіотичні, з високим антагоністичним потенціалом два штами *B. subtilis* (Bs-5, Bs-9), два штами *B. licheniformis* (Bfl-1, Bfl-4), один штам *B. coagulans* (Bcg-5), два штами *B. amyloliquefaciens* (Baf-1, Baf-3) проявляли чутливість до представників різних класів антибіотиків. Вони були рекомендовані для конструювання пробіотичних препаратів як перспективні, пробіотичні, з високим рівнем антагонізму, антибіотикочутливі та безпечні.

Таблиця 4. Стійкість штамів *Bacillus amyloliquefaciens* до основних груп антибіотиків
Table 4. Resistance of *Bacillus amyloliquefaciens* strains to the main groups of antibiotics

Антибіотик Antibiotic	Згідно з EUCAST According to EUCAST		Діаметри зон інгібування росту, мм: Diameters of growth inhibition zones, mm:			
	діаметри зон інгібування росту, мм zone diameters growth inhibition, mm		досліджувані штами <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> research strains of <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>			
	Ч ≥ S ≥	P < R <	Baf-1	Baf-2	Baf-3	Baf-4
Іміпенем / Imipenem	30,0	30,0	31,0±0,7	30,2±0,7	37,7±0,3	29,8±0,3
Меропенем / Meropenem	25,0	25,0	28,5±0,3	23,8±0,2	28,0±0,3	23,7±0,2
Ципрофлоксацин / Ciprofloxacin	50,0	23,0	25,5±0,5	27,2±0,2	24,8±0,5	23,3±0,3
Левовфлоксацин / Levofloxacin	50,0	23,0	24,5±0,5	22,3±0,8	26,2±0,7	19,0±0,7
Норфлоксацин / Norfloxacin	21,0	21,0	22,5±0,3	20,0±0,7	25,7±0,3	21,2±0,2
Ванкоміцин / Vancomycin	10,0	10,0	11,3±0,3	11,3±0,3	19,2±0,2	10,2±0,2
Еритроміцин / Erythromycin	24,0	24,0	26,3±0,3	24,2±0,7	24,8±0,5	21,8±0,2
Кліндаміцин / Clindamycin	17,0	17,0	17,7±0,3	17,2±0,2	18,2±0,2	17,2±0,2
Лінезолід / Linezolid	22,0	22,0	22,7±0,3	19,3±0,3	24,7±0,3	22,8±0,5

Всі останні досліджувані штами роду *Bacillus*, маючи високий антагоністичний ефект, проявляли стійкість до антибіотиків від 1 до 2–3 і більше представників різних груп антибіотиків, серед яких більша частина штамів залишалися поліантибіотикостійкими.

Доведено, що ефективність пробіотичних препаратів визначається сукупністю біологічних властивостей штамів культур, які входять до їх складу [15, 17].

Вчені вважають, що найперспективнішими є пробіотики, створені на основі мікроорганізмів, що належать до родів *Bacillus*, *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*, саме тих видів бактерій, які є представниками мікробіоценозів шлунково-кишкового тракту тварин та птиці [3, 8, 30].

Одержані нами результати досліджень з цього приводу підтверджують той факт, що застосування пробіотичних препаратів позитивно впливає на нормалізацію мікробіоти шлунково-кишкового тракту [5].

Світовий досвід застосування антибіотиків на практиці показав, що в лікуванні інфекційних захворювань для знищення патогенних мікроорганізмів бажано не втручатися антибіотичними препаратами у мікробіоценоз кишківника. Доведено, що за сприятливих умов для розвитку патогенних мікроорганізмів антибіотики є дуже небезпечними. Тому за новою сучасною концепцією для профілактики і лікування хвороб у тварин і птиці, спричинених умовно-патогенними і патогенними мікроорганізмами, найперше — це стимулювання природної резистентності організму. Саме кишкова мікробіота та імунна система органів травлення є потужним периферичним комплексом імунного захисту, який безпосередньо чи опосередковано впливає на імунну функцію цілого організму

[13, 16, 20, 23–25, 30]. За даними вчених, стабільний стан нормальної мікробіоти забезпечує колонізаційну резистентність слизових оболонок кишечника завдяки сукупності механізмів, які підтримують сталість кількісного і видового складу пристінкової мікробіоти і запобігають заселенню макроорганізму патогенними мікробами або надмірному розмноженню умовно-патогенних бактерій [11]. Клінічне значення патогенних і умовно-патогенних бактерій зумовлене не лише їх широким розповсюдженням, а й добре вираженими властивостями щодо набуття резистентності до антибактеріальних препаратів [35, 38]. Тому через виникнення у патогенних мікроорганізмів резистентності до поширених антибіотиків для протидії і альтернативи лікуванню антибіотиками набувають значення пробіотичні препарати. Порівняно з пробіотичними штамми лактобактерій, бактерії роду *Bacillus* стійкіші і проявляють значно вищу антагоністичну активність щодо впливу на патогенні мікроорганізми [24].

Результати наших досліджень підтверджують, що штами роду *Bacillus* з високоантагоністичним потенціалом можуть бути поліантибіотикорезистентними [5].

Науковці виявили різноспрямований вплив пробіотичних препаратів у складі з бактеріями роду *Bacillus*, зумовлений бактеріальною транслокацією, коли життєздатні бактерії зі шлунково-кишкового тракту через кров проникають у внутрішні органи [25]. Транслокація представників нормальної мікробіоти, пробіотичних бактерій роду *Bacillus* і їх метаболітів є потужним природним захисним механізмом і важливим фактором активації неспецифічної резистентності організму тварин і птиці [12, 24]. Саме тому розробка ефективних пробіотичних препаратів на основі бактерій роду

Bacillus привертає велику зацікавленість виробників тваринницької продукції, попри те, що вказані бактерії можуть проявляти медикаментозну стійкість, особливо до антибіотиків [33]. Недарма антибіотикорезистентні бактерії називають переможцями, які вижили і адаптувалися в умовах конкуренції в зовнішньому середовищі і за антибіотикової селекції. При цьому з'являються цілі нові раси бактерій, високостійких до антибактеріальних препаратів [10, 29].

Вчені наголошують, що застосування антибіотиків впливає на зростання селекційного тиску на популяцію бактерій роду *Bacillus*, внаслідок чого серед них чутливі бактерії гинуть, а кількість резистентних мікроорганізмів зростає. Антибіотикорезистентні бактерії в таких умовах продовжують рости, розмножуватися і кількісно збільшувати резистентну до антибіотиків популяцію мікроорганізмів. У зв'язку зі значним поширенням антибіотикорезистентних мікроорганізмів зростає потреба в альтернативних методах лікування, зокрема в пробіотиках [4].

Відомо, що бактерії можуть набувати стійкості внаслідок генетичної мутації в їхній ДНК (хромосомна резистентність) або внаслідок отримання мобільних елементів генів від інших бактерій, яким властива стійкість до антибіотиків (горизонтальний перенос генів резистентності). Ситуацію ускладнює те, що часто один ген резистентності здатний передавати стійкість до двох і більше антибіотиків одного класу — перехресна резистентність. Різні гени резистентності з детермінантами стійкості до антибіотиків різних класів часто розташовуються в ДНК бактерії поряд і можуть здійснювати таку передачу одночасно — корезистентність. Горизонтальна передача генів антибіотикорезистентності становить серйозну загрозу, оскільки вона відбувається дуже швидко і безпосередньо прямим шляхом. Цей механізм передачі часто спричиняє одночасне поширення стійкості до декількох антибіотиків різних класів [10, 31].

Коли стійкість проти антибіотиків сформована, бактерії зберігають її протягом тривалого часу навіть за відсутності контакту з антибіотиками. Часто спостерігають одночасну передачу генів антибіотикорезистентності і вірулентності, що призводить до появи резистентних бактерій з підвищеною вірулентністю. Небезпечним є те, що антибіотикорезистентні бактерії формують стійку популяцію і персистують в організмі тварин та птиці навіть після припинення застосування антибіотиків [29, 31, 35].

Зважаючи на ризики стосовно передачі антибіотикостійкості мікробіоті шлунково-кишкового тракту за використання біологічно активних препаратів і пробіотиків зокрема, постає питання в необхідності перевірки на резистентність до антибактеріальних препаратів пробіотичних штамів бактерій, відібраних для конструювання пробіотиків [6].

Наші випробування стосовно антибіотикорезистентності виділених від птиці ізолятів роду *Bacillus* були присвячені вивченню цього питання. Результати

наших досліджень бактерій *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens* на чутливість до антибіотиків показали, що серед відібраних перспективних пробіотичних штамів з високим антагоністичним потенціалом виявлено антибіотикорезистентні мікроорганізми. Найбільша кількість штамів, резистентних до антибіотичних препаратів, була серед бактерій *B. subtilis* — до 31,0%. Серед них виявили полірезистентність до антибіотиків груп фторхінолонів, карбапенемів і макролідів. Серед *B. licheniformis* два штами були полірезистентними і проявляли стійкість до антибіотиків груп фторхінолонів і карбапенемів, один із них був резистентним до ванкомицину (група глікопептидів). Серед *B. coagulans* полірезистентними до груп фторхінолонів і карбапенемів виявилися шість штамів, серед них чотири проявляли резистентність до ванкомицину. Серед *B. amyloliquefaciens* два штами виявився полірезистентними щодо застосованих різних груп антибіотиків.

Щодо відбору перспективних пробіотичних штамів, то серед 31 штаму бактерій роду *Bacillus* виявлено чутливість до застосованих груп антибіотиків у семи із них (22,6%), які були визначені як пробіотичні з високим ступенем антагоністичних властивостей, антибіотикочутливі, безпечні мікроорганізми з перспективою використання їх для конструювання пробіотичних препаратів. Решта дослідних штамів бактерій роду *Bacillus* з високим антагоністичним потенціалом у 77,4% випадків проявляли резистентність до застосованих різних груп антибіотиків. Це викликає стурбованість наших дослідників та інших науковців щодо поширеності серед тварин і птиці антибіотикорезистентних мікроорганізмів.

Визначено, за аналізом результатів проведених нами експериментів, високоантагоністичні штами *B. subtilis* Bs-5, Bs-9, *B. licheniformis* Bfl-1, Bfl-4, *B. coagulans* Bcg-4, *B. amyloliquefaciens* Baf-1, Baf-3, виділені від птиці з різних регіонів України, є антибіотикочутливими, пробіотичними, безпечними, перспективними для конструювання пробіотичних препаратів.

Джерела

1. Ashraf R, Shah NP. Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2014; 54 (7): 938–956. DOI: 10.1080/10408398.2011.619671.
2. Babenko LP, Tymoshok NO, Safronova LA, Demchenko OM, Zaitseva GM, Lazarenko LM, Spivak MJ. Antimicrobial and therapeutic effect of probiotics in cases of experimental purulent wounds. *Biosys. Diversity.* 2022; 30 (1): 22–30. DOI: 10.15421/012203.
3. Behnsen J, Deriu E, Sassone-Corsi M, Raffatellu M. Probiotics: properties, examples, and specific applications. *CSH Perspect. Med.* 2013; 3 (3): a010074. DOI: 10.1101/cshperspect.a010074.
4. Cassir N, Rolain JM, Brouqui P. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 551 p. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00551.
5. Chechet OM, Kovalenko VL, Horbatyuk OI, Gaidei OS, Kravtsova OL, Andriyashchuk VO, Musiets IV, Ordynska DO.

- Antagonistic properties of a probiotic preparation with bacteria of the genera *Bacillus* and *Enterococcus*. *Reg. Mech. Biosys.* 2022; 13 (4): 362–366. DOI: 10.15421/022247.
6. Cherny N, Kulak V. The resistance and productivity of rabbits at use of probiotic “Evitaliya” in terms of regulatory climate. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Vet. Sci.* 2016; 18 (2/66): 192–196. DOI: 10.15421/nlvvet6639.
 7. Dyshlyuk NV, Orlova AV. Structure's features of esophagus and it's immune formations of quails. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Vet. Sci.* 2017; 19 (77): 3–6. DOI: 10.15421/nlvvet7701. (in Ukrainian)
 8. Di Criscio T, Fratianni A, Mignogna R, Cinquanta L, Coppola R, Sorrentino E, Panfili G. Production of functional probiotic, prebiotic and synbiotic ice creams. *J. Dairy Sci.* 2010; 93 (10): 4555–4564. DOI: 10.3168/jds.2010-3355.
 9. Fanelli U, Chiné V, Pappalardo M, Gismondi P, Esposito S. Improving the quality of hospital antibiotic use: impact on multidrug-resistant bacterial infections in children. *Front. Pharmacol.* 2020; 11: 745. DOI: 10.3389/fphar.2020.00745.
 10. Feshchenko YI, Humeniuk MI, Denysov OS. Antibiotic resistance of microorganisms. State of the problem and the way of decision. *Ukr. Chemother. J.* 2010; 1–2 (23): 4–10. Available at: [http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/uhj/10/pdf10-\(1-2\)/4.pdf](http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/uhj/10/pdf10-(1-2)/4.pdf) (in Ukrainian)
 11. Hopchuk OM, Herasymova TV, Morozova OV. Probiotics: a modern perspective on therapeutic efficacy. *Med. Aspects Women's Health.* 2015; 6 (92): 56–61. Available at: https://mazzg.com.ua/ua/archive/2015/6%2892%29/pages-56-61/probiotiki-suchasniy-poglyad-na-terapevtichnu-efektivnist#Probiotiki%3A_suchasniy_poglyad_na_terapevtichnu_efektivnist (in Ukrainian)
 12. Huyghebaert G, Ducatelle R, Immerseel FV. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *SWorld J.* 2014; 187 (2): 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.tvj.2010.03.003>.
 13. Iegorov B, Kananykhina O, Turpurova T. Probiotic feed additives in fattening agricultural animals. *Grain Prod. Mixed Fodders.* 2022; 21 (4): 25–31. DOI: 10.15673/gpmf.v21i4.2250.
 14. Kachkin DV, Khorolskaya JI, Ivanova JS, Rubel AA. An efficient method for isolation of plasmid DNA for transfection of mammalian cell cultures. *Methods Protoc.* 2020; 3 (4): 69. DOI: 10.3390/mps3040069.
 15. Khariv M, Gutyj B, Ohorodnyk N, Vishchur O, Khariv I, Solovodzinska I, Mudrak D, Grymak C, Bodnar P. Activity of the T- and B-system of the cell immunity of animals under conditions of oxidation stress and effects of the liposomal drug. *Ukr. J. Ecol.* 2017; 7 (4): 536–541. DOI: 10.15421/2017_157.
 16. Klaenhammer TR, Kleerebezem M, Kopp MV, Rescigno M. The impact of probiotics and prebiotics on the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2012; 12: 728–734. DOI: 10.1038/nri3312.
 17. Kotsyumbas G, Kostynjuk A, Mysiv O, Fedyk Y. Histological, histochemical characteristics of duodenal intestine of hen-broilers for feeding with high content of probiotic supplements. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Vet. Sci.* 2017; 19 (77): 71–75. DOI: 10.15421/nlvvet7717. (in Ukrainian)
 18. Kucheruk MD, Zasekin DA, Dymko RO. Microbiological and sanitary-hygienic significance of intestinal eubiozuz in agricultural animals. *Ukr. Ecol. J.* 2018; 8 (2): 287–293. DOI: 10.15421/2018_340. Available at: <https://www.ujecology.com/abstract/microbiological-and-sanitaryhygienic-significance-of-intestinal-eubiozuz-in-agricultural-animals-1264.html> (in Ukrainian)
 19. Kucheruk MD, Zasekin DA, Dymko RO, Shcherbina OA. Sanitary and hygienic conditions of keeping poultry under organic farming as a factor of productivity. *Biores. Env. Use Ukr.* 2017; 9 (5–6): 116–124. DOI: 10.31548/bio2017.05.015.
 20. Lutgendorff F, Nijmeijer RM, Sandström PA, Trulsson LM, Magnusson KE, Timmerman HM, van Minnen LP, Rijkers GT, Gooszen HG, Akkermans LM, Söderholm JD. Probiotics prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. *PLoS ONE.* 2009; 4 (2), e4512. DOI: 10.1371/journal.pone.0004512.
 21. Matseliukh OV, Safronova LA, Varbanets LD. Probiotic strains of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* as proteinase producers. *Biotechnologia Acta.* 2015; 8 (2): 84–90. DOI: 10.15407/biotech8.02.084.
 22. Medvid SM, Hunchak AV, Stefanishyn OM, Pashchenko AG. The microbiota composition of broiler chickens for action of bioelements citrates. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Agricult. Sci.* 2017; 19 (74): 224–228. Available at: <https://nlvet.com.ua/index.php/agriculture/article/view/2333> (in Ukrainian)
 23. Mehta R, Dedina L, O'Brien PJ. Rescuing hepatocytes from iron-catalyzed oxidative stress using vitamins B1 and B6. *Toxicol. In Vitro.* 2011; 25 (5): 1114–1122. DOI: 10.1016/j.tiv.2011.03.015.
 24. Milian VO, Kharkhota MA, Nechypurenko OO. Study of probiotic properties of strains of *Bacillus sp.* 1.1. and *B. amyloliquefaciens* UKM B-5113. *ScienceRise.* 2014; 5 (1/5): 15–22. DOI: 10.15587/2313-8416.2014.32023. (in Ukrainian)
 25. Nykytenko VY, Stadnikov AA, Kopylov VA. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract in healthy and injured rats. *J. Wound Care.* 2011; 20 (3): 114–122. DOI: 10.12968/jowc.2011.20.3.114.
 26. Pavlova I. Effect of probiotics on doxycycline disposition in gastrointestinal tract of poultry. *Bulgar. J. Vet. Med.* 2015; 18 (3): 248–257. DOI: 10.15547/bjvm.908.
 27. Pitino I, Randazzo CL, Mandalari G, Lo Curto A, Faulks RM, Le Marc Y, Bisignano C, Caggia C, Wickham MSJ. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* strains in the upper gastrointestinal tract. *Food Microbiol.* 2010; 27 (8): 1121–1127. DOI: 10.1016/j.fm.2010.07.019.
 28. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect. Diseases.* 2008; 8 (3): 159–166. DOI: 10.1016/S1473-3099(08)70041-0.
 29. Romaniuk LI, Kravets NY, Klymniuk SI, Kopcha VS, Dronova OY. Antibiotic-resistance of opportunistic microorganisms: topicality, conditions of emergency, ways of overcome. *Infect. Diseases.* 2019; 4: 63–71. DOI: 10.11603/1681-2727.2019.4.10965. (in Ukrainian)
 30. Romanovych MM. The dynamics of humoral protection factors in broilers under the conditions of probiotic preparations application. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Vet. Sci.* 2018; 20 (83): 264–267. DOI: 10.15421/nlvvet8352. (in Ukrainian)
 31. Salmanov AH, Muzyka VP. Combating antibiotic resistance based on the principles of the “One Health” concept. *J. Antibiot. Probiot.* 2017; 1 (2): 8–29. DOI: 10.31405/ijap.2-1.18.06.
 32. Shchur N, Chechet O, Mazur T, Martyniuk O, Gorbatiuk O, Buchkovska H, Musiets I, Ordynska D, Finkova O, Moskalenko L, Ponomaryova-Gerasimyuk T, Lusta M, Nedosekov V. Prevalence and antimicrobial resistance of campylobacter isolated from animals and poultry in Ukraine. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2023; 11 (5): 852–863. DOI: 10.17582/journal.aavs/2023/11.5.852.863.
 33. Shkromada OI, Dudchenko YA. Study of the antimicrobial activity of probiotic strains of *Bacillus*. *Bull. SNAU. Ser. Vet. Med.* 2021; 4 (55): 38–43. DOI: 10.32845/bsnau.vet.2021.4.6. (in Ukrainian)
 34. Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Herman L, Haesebrouck F, Butaye P. Broad-spectrum β -lactamases among *Enterobacteriaceae* of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiol. Rev.* 2010; 34 (3): 295–316. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00198.x.
 35. Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am. J. Med.* 2006; 119 (6/1): 3–10. DOI: 10.1016/j.amjmed.2006.03.011.
 36. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022, valid from 2022-01-01. Available at: <https://www.eucast.org>
 37. Weiß CH. StatSoft, Inc., Tulsa, OK.: *Statistica*, version 8. *ASTA Adv. Stat. Analysis.* 2007; 91 (3): 339–341. DOI: 10.1007/s10182-007-0038-x.
 38. Zabrovskaya AV. Sensitivity to antimicrobial preparations of microorganisms isolated from agricultural animals and from livestock production. *VetPharma.* 2012; 5: 20–24.

On sensitivity to antibacterial preparations of strains of *Bacillus spp.* with a high level of antagonistic activity for the production of probiotics

O. M. Chechet, V. L. Kovalenko, O. I. Horbatyuk, N. V. Kuryata, G. A. Buchkovska, I. V. Musiets, L. V. Shalimova, D. O. Ordynska, L. V. Balanchuk, N. V. Shchur, L. V. Togachynska
goroliva@ukr.net

State Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary-Sanitary Examination, 30 Donetska str., Kyiv, 03151, Ukraine

The development of organic livestock farming, in particular poultry farming, which Ukraine is targeting, requires a radical change in approaches to the prevention and treatment of infectious diseases. The macroorganism and microbiota of the gastrointestinal tract constitute a single ecological system with homeostatic balance. However, its violation creates a threat of an imbalance of intestinal normal flora and the development of diseases of bacterial etiology in poultry. Considering this, there is a growing need for the development and use of probiotic preparations. The high antagonistic potential of bacteria of the genus *Bacillus* in relation to other pathogens causes scientific and industrial interest in the development of probiotics with their involvement in the composition of these bacteria as an alternative to antibiotics. But due to the existence of risks of direct transfer of R-plasmids of antibiotic resistance to the biotic microflora of the gastrointestinal tract together with probiotic strains when they acquire resistance, promising strains of bacteria of the genus *Bacillus* should be tested for sensitivity to antibiotic drugs. We selected promising probiotic strains with a high level of antagonism, *Bacillus subtilis* Bs-5 and Bs-9, *Bacillus licheniformis* Bfl-1 and Bfl-4, *Bacillus coagulans* Bcg-5, *Bacillus amyloliquefaciens* Baf-1 and Baf-3 showed full sensitivity to the applied antibiotics — representatives of the groups of carbapenems, fluoroquinolones, glycopeptides, lincosamides, macroliths and oxazolidones. These strains were recommended as probiotic, antibiotic sensitive, safe and promising for their use in the design of probiotic preparations. The obtained results of laboratory studies of other strains of *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens* proved the presence among them of bacteria polyresistant to fluoroquinolone, carbapenem, macrolide and glycopeptide antibiotics.

Key words: antibiotic resistance, antagonistic activity, probiotic strains, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus amyloliquefaciens*