

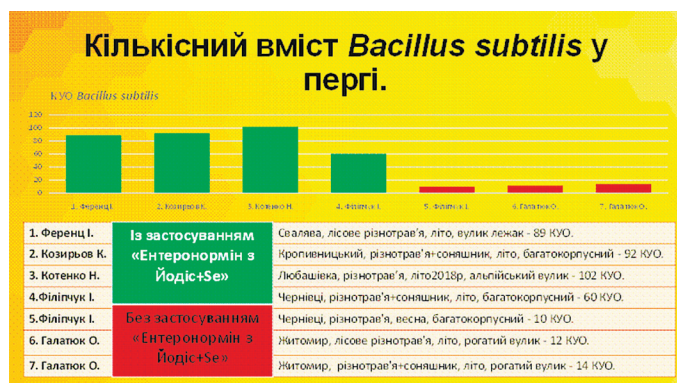
ОКРЕМІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ БДЖОЛИНОГО МОРУ

ПЕРЕСТА М. М., лікар ветеринарної медицини, заст. директора з наукової роботи ТОВ СГП МБС;
БОЙКО Н. В., д-р хім. наук, проф., зав. каф. клініко-лабораторної діагностики і фармакології, директор НДН Центру молекулярної мікробіології та імунології слизових оболонок УжНУ;
БРОВАРСЬКИЙ В. Д., д-р с.-г. наук, проф., завідувач кафедри бджільництва ім. В.А. Нестерводського НУБіП України;
ВІЩУР О. І., д-р вет. наук, проф., завідувач лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН;
ГАЛАТЮК О. Є., д-р вет. наук, проф., завідувач кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології ЖНАЕУ;
МЕЛЬНИЧЕНКО В. М., проф., академік УТА, почесний доктор BRUSSELS CAPITAL UNIVERSITY;
ДІДОВЕЦЬ А. О., завідувачка відділу ТОВ СГП МБС;
ДІДОВЕЦЬ М. В., завідувач відділу виробництва ТОВ СГП МБС;
МІЗЕРНИЦЬКИЙ О. О., заст. директора ТОВ СГП МБС.

Загибель бджіл за останні роки стала глобальною проблемою, їхня популяція почала стрімко зменшуватися через явище, що отримало назву «Колапс бджолиних сімей» (Colony Collapse Disorder). В основі виникнення цього синдрому лежить взаємодія відразу декількох факторів: це порушення живлення розплуду і дорослих особин, отруєння пестицидами, активізація патогенних мікроорганізмів, висока ступінь інвазії кліщем Varroa destructor, інтенсивне застосування антибіотиків, електромагнітне випромінювання, глобальне потепління, неспроможність бджіл швидко адаптуватися до умов агресивного середовища тощо. Поки що не вдалося знайти жодної окремої причини зникнення бджолиних популяцій.

Бджолиній сім'ї, як і всім живим організмам, притаманні три основні властивості – це харчування, розмноження, а також захист від впливу патогенних факторів. Для отримання енергії, побудови і відновлення тканин організму бджолам потрібні корми, що містять вуглеводи, жири, білки, макро- та мікроелементи, вітаміни, а також вода. Медоносні бджоли належать до комах з

вузькоспеціалізованим харчуванням. У природних умовах вони харчуються медом – вуглеводним кормом, який виробляють із нектару квіток, паді (джерела надходження: солодкі екскременти попелець, червеців, листоблішок; медв'яна роса). Додатковими джерелами вуглеводного корму для медоносних бджіл також є соки, добуті з плодів рослин, цукор тощо. В якості білкового живлення, задоволення потреб сім'ї у вітамінах, макро- і мікроелементах та інших сполуках бджоли використовують пилок рослин. Його бджоли збагачують ферментами та вуглеводами, складають у комірочки, де за складних процесів виробляють корм, який у бджільництві називають пергою. Перетворення нектару в мед зводиться до розщеплення складних цукрів на прості під дією ферментів і видалення надмірної кількості води. Мед є джерелом корму, що забезпечує бджолам отримання енергії, необхідної для льотної діяльності, переміщення на стільнику, функціонування органів ротового апарату, продукування тепла взимку тощо. Білково-вітамінне живлення для бджіл пов'язане з функціонуванням залоз як внутрішньої, так і зов-



Додаток 1.



Додаток 2.

нішньої секреції. Завдячуючи роботі цих залоз, бджоли виробляють корми для личинок і власного споживання, будують житло, годують матку, переробляють нектар і пилок. Пилкові зерна, які висипаються з пильників квітки, потрапляють на поверхню тіла бджоли і застрягають між волосинками. За допомогою щіточок та інших пристосувань, які розміщені на ніжках, бджола зчищає з тіла пилок, склеює зерна за допомогою нектару та слини і у вигляді грудочок, які називають бджолиним обніжжям, зосереджує в корзинках задньої пари ніжок. Прилетівши до гнізда, бджола скидає за допомогою шпорки обніжки до комірки стільника. За поступового наповнення комірок бджоли ущільнюють обніжжя, обробляють верхній шар медом. Впродовж 10-12 діб у пилку проходить молочнокисла ферментація, і він перетворюється в пергу [2, 3, 13]. У процесі дії ферментів і мікроорганізмів в продукті утворюються молочна кислота, складні сполуки розщеплюються до простих. Мікробіота пилку та повноцінної перги істотно відрізняється, особливо за рахунок патогенних мікроорганізмів, що доведено результатами досліджень (Протокол ДНКІ БШМ № 7 та № 12 від 18 березня 2021 р.).

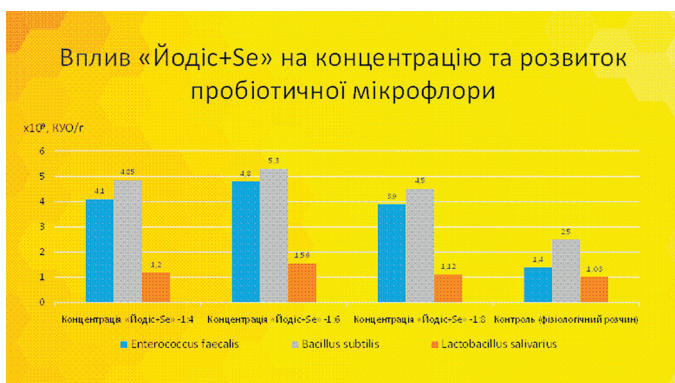
У бджіл в процесі травлення велику роль відіграють мікроорганізми перги та кишечника. Для перги притаманні різні види мікроорганізмів, у тому числі бактерії *Bacillus Subtilis*, які беруть участь у травленні (синтез ферментів, продукують антибіотичні речовини, що відповідають за антагоністичний ефект, щодо патогенних мікроорганізмів). Перга, крім важливого для бджіл джерела поживних речовин, має також потужні антибактеріальні та імуномодулюючі властивості [10]. На підставі дослідження проб зразків бджолиної перги з різних пасік та регіонів країни нами доведено, що бактерія *Bacillus Subtilis* присутня у всіх пробах, хоча кількісний показник суттєво відрізняється в залежності від впливу багатьох факторів (Протокол ДНКІ БШМ № 0091 від 18 листопада 2019 р., додаток 1).

Кишкова мікрофлора дорослих бджіл переважно формується з початком їх льотної діяльності за рахунок мікрофлори медоносних рослин,

з якими ці комахи щодня контактують, води. У молодих бджіл джерелом потрапляння мікроорганізмів є виключно корм, який вони отримують від годувальниць, і безпосередній контакт з дорослими особинами, а також мікрофлора води і повітря гнізда. Мікробний фон кишкового тракту медоносною бджоли складають ентеробактерії, молочнокислі бактерії, стафілококи, ентерококи, псевдомонади, стрептококи, дріжджові гриби. Наявність, кількість і співвідношення цих мікроорганізмів залежить від місця розташування пасіки, періоду року, стану бджолиних сімей.

У життєдіяльності бджіл симбіотна мікрофлора кишечника має важливе значення не тільки для процесу травлення, але й проявляє антагоністичну активність проти патогенних мікроорганізмів, бере участь у функціонуванні імунної системи організму загалом.

Неконтрольоване використання хімічних засобів захисту рослин призводить до різкого зниження щільності мікроорганізмів у ґрунтах. Отримані результати наукових досліджень свідчать, що через місяць після одноразової обробки гербіцидом гліфосат кількість мікроорганізмів у досліджуваних зразках ґрунту зменшується в 1600 разів у порівнянні з контролем. Через рік після багаторазової (11 разів упродовж 5 років) обробки гербіцидом вміст мікроорганізмів у ґрунті в значній мірі відновився, але був нижче, ніж у контролі, приблизно у 8,9 раза. У цьому випадку, ймовірно, позначилося накопичення гліфосату та продуктів його розкладання в ґрунті та рослинах [1]. Поряд з цим зміна клімату та вплив інших патогенних чинників призводять до порушення екологічної рівноваги мікробіоти, що оточує рослину [4]. Це, у свою чергу, впливає на якість та вміст мікрофлори у нектарі та пилку, що зумовлює неповноцінність меду та перги. Неякісна перга та мед порушують баланс мікробіоценозу кишечника бджіл, що призводить до активного розвитку патогенних мікроорганізмів. Значну увагу привертають грамнегативні бактерії родини Ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*), а саме: *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* та *Serratia marcescens*, які тісно пов'язані з мікро-



Додаток 3.

Антагоністична дія проти збудників *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* (Синдром руйнування колоній-Колапс бджіл)

Антагоністична активність препарату "Ентеронормін" in vitro

Препарат має виражену антагоністичну активність по відношенню до збудника *Enterobacter aerogenes* *Klebsiella pneumoniae*

Додаток 4.

біотою бджіл. При цьому констатовано високу корелятивну залежність стану кишкового тракту бджіл від кількісної присутності ентеробактерій, лактобактерій і ентерококів. Підвищений вміст у кишечнику бджіл ентеробактерій призводить до розвитку дисфункції травного тракту комах, аж до виражених анатомічних дефектів. Водночас кількісне превалювання в кишечнику сапрофітних молочнокислих мікроорганізмів (лактобактерій і ентерококів) позитивно позначається на структурі та функціонуванні стінок кишечника й організму бджіл загалом [10, додаток 2].

Американські дослідники Ненсі Моран (Nancy A. Moran) та колеги з Техаського університету США виявили, що найбільш розповсюджений гербіцид гліфосат знижує чисельність деяких кишкових бактерій, після чого бджоли стали сильніше схильні до впливу патогенних бактерій, і це могло стати причиною зменшення чисельності бджіл. Гербіцид широкого спектру дії гліфосат (N-(фосфонометил)-гліцин), що продається під назвою «RoundUp» та інші, використовується по всьому світу для боротьби з бур'янами. Ця речовина діє на специфічні метаболічні процеси не тільки рослин, а також мікроорганізмів, тому гліфосат вважається одним з безпечних для тварин і людей, хоча влада Каліфорнії засумнівалася в цьому і внесла його в список потенційних канцерогенів. Однак гліфосат, впливаючи на мікробіом кишечника, може викликати дисбактеріоз, що є важливим для здоров'я багатьох тварин, у тому числі і бджіл. Результати досліджень показали, що смертність бджіл, які отримували гербіцид гліфосат під час заселення кишкової флори, була вище, ніж у бджіл зі сталою мікробіотою, внаслідок зараження патогенним мікроорганізмом *Serratia marcescens* [12].

З огляду на це, на нашу думку, однією з причин підвищеної смертності бджолиних колоній за останні роки може бути не тільки гостре отруєння токсинами ядохімікатів, а також повсюдне використання гербіцидів, таких як гліфосат, та препаратів групи неонікотиноїдів у рекомендованих концентраціях. Це призводить до дисбактеріозу кишківника бджіл, якісної та кількісної зміни нормальної мікрофлори,

активації грамнегативних бактерій родини Ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*), що зумовлюють клінічні реакції макроорганізму, імунні та метаболічні порушення і, як результат, збільшують смертність бджіл від патогенних мікроорганізмів.

За свідченнями медиків, інфекції, що викликаються *Klebsiella*, *Enterobacter* і *Serratia*, останнім часом здебільшого є внутрішньо лікарняними і зустрічаються головним чином у хворих людей зі зниженою резистентністю. Всі три мікроорганізми можуть бути причинами великої різноманітності інфекцій, включаючи бактеріємію, інфекції при хірургічних втручаннях, внутрішньосудинні інфекції та інфекції дихальних або сечових шляхів, які проявляються як пневмонія, цистит або пієліт і можуть прогресувати до абсцесу легень, емпієми і сепсису [15].

Українськими вченими під керівництвом проф., д-ра вет. наук, завідувача кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології ЖНАЕУ Галатюка О. Є. при проведенні аналізу мікроорганізмів бджоли та мікрофлори вулика загалом було доведено, що підвищення в декілька разів мікрофлори у бджолиних сім'ях сприяє активізації патогенних збудників, що призводить до захворювання. При цьому виявлено патогенність для бджіл бактерій родини Ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*), у тому числі *Enterobacter aerogenes* та *Klebsiella pneumoniae*. При захворюванні *Enterobacter aerogenes* у хворих комах уражається кишечник. Під час весняного обльоту виявляють багато підмору (мертвих бджіл) на дні вулика та біля льотків. Сім'ї ослаблені, бджоли повільно рухаються. Рамки та стінки вуликів забруднені випорожненнями. Якщо не проводити лікувально-профілактичних обробок, то сім'ї гинуть, або «стоять на одному місці» – не нарощують кількості бджіл. У разі інфікування бджіл бактерією *Klebsiella pneumoniae* уражається лялечка. Уражені мертві лялечки напівзапечатані, виявляють дірочки у воскових кришечках окремих комірок. При ураженні цими двома збудниками відмічаються проноси у дорослих бджіл та ураження лялечок. Хворі сім'ї повільно розвиваються, на щільниках виявляють випорожнення, бджоли повільно відбудовують щільники із свіжою вощи-



Додаток 5.



Додаток 6.

ною, суттєво знижується медова продуктивність. У хворих сім'ях уражуються також матки, які нерівномірно засівають щільники, і часто бджоли таких маток хочуть помінати. Бджоли зтягують роївові маточники, хоча сила сім'ї незначна – 4-5 рамок з розплодом. Такий феномен «несправжнього роїння» у слабих сім'ях проявляється з квітня по жовтень. Спостерігається злітання таких бджолиних сімей у серпні-вересні [5].

Професор біології Університету у Віконсінні-Стаут США Джим Буррітт (James V. Burritt, Ph.D.) і його студенти зробили важливе відкриття та опублікували дослідження іншого штаму бактерії родини Ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*), а саме *Serratia marcescens*, яке підтвердило його згубну силу, що може допомогти у визначенні причин масової загибелі бджіл. Вчені присвоїли вказаній бактерії назву *sicaria*, що означає «вбивця», і було використано скорочення Ss1. Ці бактерії можна побачити під світловим мікроскопом у мазку гемолімфи, отриманої від хворих бджіл. Дослідження гемолімфи уражених бджіл показали значне зниження рівня плазмоцитів та інших типів гемоцитів, послаблення клітинного імунітету, внаслідок чого починається сепсис, що призводить до загибелі комах. Разом з цим збудник Ss1 був виявлений приблизно у половини кліщів Варроа-деstructor, взятих із бджолосімей, у яких відмічалися септичні (напівмертві) бджоли [9, 14].

Зазвичай закономірно виникає питання стосовно шляхів та механізмів ураження гемолімфи бджіл мікробою *Serratia marcescens*. На наш погляд, заслуговує на увагу такий фактор, як мікробна транслокація – це проходження життєздатних бактерій з кишкового тракту через слизову оболонку в органи та тканини макроорганізму [6]. Умовами виникнення цього явища можуть бути дисбактеріоз кишечника, пошкодження кишкового бар'єру, кишкова непрохідність, а також системна імуносупресія внаслідок хвороб та дії токсичних ядохімікатів. Не всі мікроби здатні до транслокації, найбільше це притаманно ентеробактеріям, кишковій паличці, протею. Транслокацію збудників інфекції ефективно блокують живі бактеріальні препарати.

Для забезпечення ефективних заходів профілактики захворювань бджіл вітчизняними вченими під керівництвом проф. Бойко Н. В., зав. кафедрою клініко-лабораторної діагностики і фармакології, директора НДН Центру молекулярної мікробіології та імунології слизових оболонок Ужгородського національного університету, розроблений ветеринарний препарат «Ентеронормін» (РП № ВВ-00427-02-12 від 13.04. 2012 р. та Сертифікат Органік Стандарт № 20-1387-01-02) з водою, збагаченою іонами біологічно активного йоду та селену у формі «ЙодісK+Se» для його активації. Препарат являє собою водорозчинний порошок, до складу якого входять живі культури корисних мікроорганізмів роду *Lactobacillus* spp, бактерій *Bacillus subtilis* spp та роду *Enterococcus* spp, хітозан водорозчинний, а також поживне середовище. Діючою основою препарату є мультикомпонентний симбіоз пробіотичних штамів, сконструйований з урахуванням синергічного доповнення унікальних пробіотичних властивостей кожного штаму, а саме: антагоністична активність відносно широкого спектра патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів за рахунок синтезу бактеріоцинів, органічних кислот, вітамінів групи В (В1, В2, В6, В12, РР), коротколанцюгових жирних кислот, різноманітного спектра ензимів; стимуляція синтезу муцинів знижує проникність тканинних бар'єрів для токсинів, активує розвиток і продуктивність бджолиних сімей.

Йод, у формі «Йодіс-концентрату+Se» (ТУ У 15.7-30631018-011:2011), створений силами українських вчених на чолі з професором, академіком УТА, почесним доктором BRUSSELS CAPITAL UNIVERSITY Мельниченком В. М., є природним селективним «кілером», що втрачає токсичні і подразнюючі властивості, але повністю зберігає свою активність як мікроелемент і антисептик. Разом з цим позитивно діє на рівновагу мікрофлори кишечника, взаємодіє практично з усіма класами речовин, що входять до складу організму, так само, як і до складу мембран і самих клітин. Його здатність легко проникати через клітинні мембрани робить препарат осо-



Додаток 7.



Додаток 8.

бливо цінним при всіх інфекціях, за яких основний патологічний процес відбувається саме у внутрішньоклітинних структурах. Йод попереджує порушення обмінних процесів у тканинах, підтримує захисні реакції організму, прискорює утворення нових клітин. Йод і селен підсилюють дію один одного, позитивно впливають на антиоксидантний механізм, сприяють нейтралізації вільних радикалів і захищають організм від шкідливих речовин [8].

З огляду на те, що ветеринарний препарат «Ентеронормін», до складу якого входять не тільки пробіотичні мікроорганізми, а й поживне середовище, перед застосуванням рекомендовано активувати впродовж 16 годин водою, підготовленою за допомогою «ЙодісК+Se», при цьому активність препарату збільшується в 3-4 рази (Протокол ДНКІ БШМ № 0030 від 23.02.2017 р.). Механізм впливу «Ентеронорміну» – комплексний, і включає в себе як дію пробіотичних мікроорганізмів, так і продуктів їхнього синтезу, а також дію біологічно активного йоду та селену. Цей механізм має пролонговану дію, а головне – спричиняє реабілітуючий вплив на активність імунної системи організму бджоли [9, додаток 3].

Результатами досліджень затримки росту бактерії родини Ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*), які були проведені Державним науково-контрольним інститутом біотехнології і штамів мікроорганізмів України, підтверджено антагоністичну дію препарату «Ентеронормін» з водним розчином «ЙодісК+Se» проти *Enterobacter aerogenes* та *Klebsiella pneumoniae* (Протокол № 0037 від 25.05.2019 р., додаток 4), а також проти *Serratia marcescens* (Протокол № 0014/21 від 21.04.2021 р., додаток 5). Поряд з цим проведено дослідження ефективності препарату проти збудників інфекційних захворювань: американського гнильцю бджіл *Bacillus larvae* (Протокол № 032 від 25.07.2018 р., додаток 6) і *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* за загально прийнятою методикою (Протокол № 029 від 12.04.2018 р., додаток 7).

Необхідно зауважити, що за результатами досліджень гемолімфи бджіл, проведених на кафедрі мікробіології ЖНАЕУ, доведено імуномодельючі властивості препарату «Ентеронормін з водним розчином Йодіс+Se», а саме позитивну динаміку кількісних змін фагоцитів та гемолімфо-секреторних клітин [16, додаток 8].

Застосування препарату «Ентеронормін з водним розчином Йодіс+Se» на різних пасіках, згідно з настановою та вимогами ветеринарно-санітарних норм, показало високу профілактичну, терапевтичну та економічну ефективність. Простота у використанні, без зміни технологічного процесу, дозволила отримати конкурентоспроможну продукцію найвищої категорії якості, збагаченою йодом природним шляхом.

Список літератури

1. Бакулин М.К., Овсянников Ю.С., Туманов А.С., Бакулин В.М. Деградація гербицида глифосата бактеріями родів *pseudomonas* и *proteus*. Научный журнал Фундаментальные исследования, ISSN 1812-7339, 2014. № 8 (часть 6).
2. Броварський В., Бріндза Я., Отченашко В. Дослідна справа у бджільництві : навчальний посібник. К. : Редакційно-видавничий відділ НУБіП України, 2020. 196 с.
3. Броварський В.Д., Бріндза Я., Величко С. М. Етологія бджіл при формуванні запасів білкового корму. Зб. наук. праць Словацького аграрного університету «Агробіорізноманіття для покращання харчування, здоров'я і якості життя». Нітра, 2015. Ч. 1. С. 65–68.
4. Бугина Л. М., Паллаг О. В., Рукавчук Р. О., Бойко Н. В. Аналіз мікробіому листових поверхонь рослин закарпатського регіону. Ужгородський національний університет. Наукові доповіді НУБіП України. ISSN 2223-1609, 2020. № 4 (86).
5. Галатюк О.Є. Нові ентеробактеріози бджіл в Україні. Пасічник. Індекс 91344. 2018. № 12. С. 4.
6. Дьяченко А.Г. Мукозний імунітет і транслокація бактерій. Клінічна імунологія, алергологія, інсектологія. 2016. № 8 (97). С. 10–16.
7. Мельниченко В. Н., Ярощук А. П., Максін В. И. К вопросу решения проблемы йододефицита в рамках программы «Йодис». Экология довкілля та безпека життєдіяльності. 2004. № 5. С. 30–35.
8. Мізерницький О.О., Переста М.М. Біологія бджіл та ефективність препарату «Ентеронормін» з «Йодіс+Se». Ексклюзивні ТЕХНОЛОГІЇ. URL: <http://agrotimeteh.com.ua>
9. Новотник П. Открыта бактерия, которая может убивать пчелы. Пасечник. 2019. № 1. URL: <https://pasieka24.pl>
10. Сердюченко И.В. Микробиоценоз кишечного тракта медоносных пчел и его коррекция. 2013. URL: <https://www.dissercat.com › content › mikrobiotsenoz-k>
11. Abouda Z., Zerdani I., Kalalou I., Faid M., Ahami M.T. The antibacterial activity of moroccan bee bread and bee-pollen (fresh and dried) against pathogenic bacteria. Research Journal of Microbiology. 2011. № 6.4. P. 376–384.
12. Erick V. S. Motta, Kasie Raymann, Nancy A. Moran. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2018. 201803880. DOI: 10.1073/pnas.1803880115 site:openforest.org.ua
13. Velychko S., Brovarkyi V., Brindza J. Bee stimulation to form protein food reserves. Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences vol. 15, 2021, p. 274–284. URL: <https://doi.org/10.5219/1562>. Received: 2 February 2021. Accepted: 9 April 2021. Available online: 28 April 2021 at www.potravinarstvo.com © 2021. Potravinarstvo. Slovak Journal of Food Sciences, License: CC BY 4.0. ISSN 1337-0960 (online).
14. Kasie Raymann, Kerri L. Coon, Zack Shaffer, Stephen Salisbury, Nancy A. Moran. Pathogenicity of *Serratia marcescens* Strains in Honey Bees. 2018. URL: <https://mbio.asm.org › content>
15. Larry M. Bush MD, FACP, Charles E. Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University. *Klebsiella*, *Enterobacter*, and *Serratia* Infections. Content last modified, Feb, 2020. URL: www.merckmanuals.com
16. Tushak S.F. Quantitative changes in hemogram of bees using probiotic «Enteronormin». Наук. вісник ЛНУ-ВМБ ім. Гжицького. 2018. Т. 20. № 83. С. 61–65.

ЕНТЕРОНОРМІН™



Organic
Standard



Шлях до екологічного та
прибуткового господарювання



ТОВ «СГП «МБС»
СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКЕ ПІДПРИЄМСТВО
МІКРОБІОЛОГІЧНІ СИСТЕМИ

БЕЗКОШТОВНА ГАРЯЧА ЛІНІЯ
0 800 300 008

