

## LACTOBACILLI PLANTARUM IR FERMENTUM ĮTAKA BENDRAM NAUJAGIMIŲ VERŠELIŲ LAKTOBACILŲ IR ENTEROBAKTERIJŲ KIEKIUI FEKALIJOSE

Vaidas Oberauskas, Rasa Sutkevičienė, Jonė Kantautaitė, Antanas Sederevičius  
Lietuvos veterinarijos akademija, Virškinimo fiziologijos ir patologijos mokslinis centras,  
Tilžės g. 18, 47181 Kaunas; tel. (8-37) 36 36 92, faks. (8-37) 36 24 17, el. paštas: [vaidas@lva.lt](mailto:vaidas@lva.lt)

**Santrauka.** Bandytas atliktas Lietuvos veterinarijos akademijos Praktinio mokymo ir bandymų centre su dviem naujagimių veršelių grupėmis. Tyrimo tikslas buvo įvertinti *Lactobacillus plantarum* U-14 ir *Lactobacillus fermentum* U-5 padermių įtaką bendram naujagimių veršelių laktobacilų ir enterobakterijų kiekiui bei santykiui fekalijose. Tyrimams naudotas liofilizuotas preparatas, kurio 1g *L. plantarum* U-14 yra  $6 \times 10^8$  KfV (kolonijas formuojančių vienetų), o *L. fermentum* –  $2 \times 10^7$  KfV. Probiotiko paros dozė – 4 g. Tiriamosios grupės veršeliai (n=4) gavo probiotiko su krekonomis du kartus per parą aštuonias paras iš eilės, o kitas šešias paras tiriamosios grupės veršeliai preparato negavo. Kontrolinės grupės veršeliai (n=4) probiotiko negavo. Veršeliai buvo stebimi 14 parų. Išmatos buvo imamos kas antrą dieną po rytinio šėrimo. Laktobaciloms nustatyti buvo naudojamas MRS (de Man, Ragosa, Sharpe) agaras (Liofilchem, Italija), enterobakterijoms – McConkey agaras, XLD agaras, SS agaras (Liofilchem, Italija) ir Levino agaras (Merck).

Nustatyta, kad *L. plantarum* U-14 ir *L. fermentum* U-5 padermės patikimai veikė bendrą laktobacilų ir enterobakterijų santykį viso tyrimo metu. Liofilizuotas preparatas daugiausia įtakos turėjo bendram enterobakterijų kiekiui ( $p < 0,001$ ) ir jų kiekį sumažino.

**Raktazodžiai:** *Lactobacilli fermentum* ir *plantarum*, enterobakterijos, veršeliai.

## THE EFFECT OF LACTOBACILLI PLANTARUM AND FERMENTUM ON THE TOTAL COUNT OF ENTEROBACTERIA AND LACTOBACILLUS IN THE FAECES OF NEONATE CALVES

**Summary.** The aim of this investigation was to evaluate the effect of *Lactobacillus plantarum* U-14 and *Lactobacillus fermentum* U-5 strains on the total count and the ratio of enterobacteria and lactobacillus in the faeces of neonate calves. Eight neonate calves were randomly divided into two equal groups - experimental and control. The lyophilized probiotic preparations *L. plantarum* –  $6 \times 10^8$  CFU (colony forming units)/g, and *L. fermentum* –  $2 \times 10^7$  CFU/g were used. The calves in experimental group were orally dosed with 2g of preparation twice daily with colostrum for the first 8 days after birth and to the calves in control group the preparation was not given. Further, the observations continued for 14 days after birth. Faecal samples were collected from the rectum every other day after morning feeding. For determination of lactobacillus in faeces MRS agar (de Man, Ragosa, Sharpe, Liofilchem, Italy), and for enterobacteria - McConkey agar, XLD and SS agar (Liofilchem, Italy) and Levine agar (Merck) were used.

The results from this study demonstrate that *L. plantarum* U-14 and *L. fermentum* U-5 strains during the entire experiment markedly influenced the total count and ratio of lactobacillus and enterobacteria. However, the highest impact was observed on the total count of enterobacteria, where reduction was highly significant ( $P < 0.001$ ).

**Keywords:** *Lactobacilli fermentum* and *plantarum*, enterobacteria, neonate calves.

**Įvadas.** Mikroorganizmai, daugiausia *Lactobacillus* ir *Bifidobacterium* genčių atstovai, yra įprastiniai virškinimo trakto ekosistemos gyventojai (Mitsuoka, 1992). Gerindami žarnyno mikroflorą šie gyvi mikroorganizmai palankiai veikia gyvulio sveikatą (Fuller, 1989); virškinimo trakto infekcijų profilaktiką (Tannock et al., 1988), daro antimutageninį ir antikarcinogeninį poveikį (Fuller, Gibson 1997; Burns, Rowland, 2000), didina imuninį atsaką (Kimura et al., 1997; Perdígón et al., 2001).

Probiotikų, kurie yra alternatyva antibiotikams, naudojimu gyvuliams labai domimasi (Fuller, 1989; Abe et al., 1995). Vartojant antibiotikus produkcijos gyvuliams išsivysto atsparios antibiotikams bakterijų populiacijos. Vėliau, gydantis tais pačiais antibiotikais, jie gali būti neefektyvūs. Antibiotikų likučiai piene, mėsoje ir kiaušiniuose nepageidaujami, todėl pastaruoju metu antibiotikai kaip augimo stimulatoriai yra draudžiami (Сидоров и др., 2000). Juos pakeičia bakteriniai preparatai, kurie stimuliuoja gyvulių produkciją, o jų

efektyvumą palaiapsniui siekiama didinti (Wallace, Newbold, 1992).

Kad gauti su pašaru probiotikai veiktų žarnyno mikrobinį metabolizmą ir būtų naudingi šeiminko organizmui, virškinimo trakte jų turi išlikti pakankamai – nuo 20% iki 40%. Pagrindinė kliūtis probiotiniams mikroorganizmams išlikti gyvybingiems yra skrandžio rūgštingumas ir tulžies druskų poveikis (Bezkorovainy, 2001). Kad tarp probiotinių mikroorganizmų, patenkančių su pašaru, ir rezidentinės mikrofloros, esančios virškinimo trakte, įsivyratų pusiausvyrą, pašare būtina pastovi probiotikų dozė – nuo  $10^6$  iki  $10^7$  KfV/g (Guillot, 1998).

Sąlyginai sterilus nuo gimimo gyvulys greitai įgyja komensalią žarnyno mikroflorą, kuri virškinimo trakte sukuria ekosistemą. Viena iš komensalios floros bakterijų yra *Lactobacillus* gentis. Šią gentį siūloma panaudoti sąlyginai patogeninių bakterijų, tokių kaip *Escherichia coli*, kontrolei virškinimo trakte (Hobson, Stewart, 1997). Vieni autoriai nurodo, kad veršelių storosios žarnos turinyje enterobakterijų yra  $10^6$ - $10^9$ /g (Сидоров и др., 2000; Бовкун и др., 1999), kiti –  $10^9$ - $10^{11}$ /g (Sederevičius

ir kt., 1994). Tuo tarpu laktobacilų –  $10^7$ - $10^9$ /g, bifidobakterijų –  $10^8$ - $10^{12}$ /g, ir šis kiekis priklauso nuo gyvulio amžiaus (Квасников, Нестеренко, 1975; Сидоров и др., 2000). Jų kiekio sumažėjimas žemiau  $10^7$ /g rodo žarnyno ekosistemos pažeidimą (Сидоров и др., 2000). Probiotinės bakterijos, daugiausia gaminančios pieno rūgštį, yra naudojamos atstatyti komensalios floros balansą ir neleisti žarnyno kolonizuoti diarėja sukeliančioms *E. coli* ir *Salmonella* (Simon et al., 2001). Tyrimais su veršeliais ir paršeliais taip pat buvo nustatyta, kad probiotinės bakterijos sumažina diarėjos paplitimą bei didina kūno masės priaugimą (Fumiaki Abe, 1995). Tačiau probiotikų poveikis patogeninėms žarnyno bakterijoms yra pats svarbiausias (Simon et al., 2001). Nustatyta, kad atskiros *Lactobacillus* rūšys gamina antibakterines medžiagas – bakteriocinus, pasižyminčius skirtingu aktyvumu atskiroms *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 ir *E. coli* K88 padermėms (Laniewska-Moroz et al, 2001). Nustatyta, kad *L. plantarum* vienas ar kombinacijoje su kitomis probiotinėmis bakterijomis gali sumažinti ir eliminuoti potencialiai patogeninius mikroorganizmus *in vitro* ir *in vivo* (Bengmark, 1998).

**Darbo tikslas** – nustatyti ir išanalizuoti *Lactobacillus plantarum* U-14 ir *Lactobacillus fermentum* U-5 poveikį enterobakterijų ir laktobacilų kiekiui bei santykiui fekalijose pirmomis veršelių gyvenimo dienomis.

**Medžiagos ir metodai.** Bandymas atliktas Lietuvos veterinarijos akademijos Virškinimo fiziologijos ir patologijos moksliniame centre ir Praktinio mokymo ir bandymų centre su naujagimiais veršeliais. Sukomplektuotos dvi sveikų veršelių grupės – kontrolinė (n=4) ir tiriamoji (n=4). Veršeliai buvo laikomi atskiruose gardeliuose ir girdomi motinos krekenomis. Tiriamosios

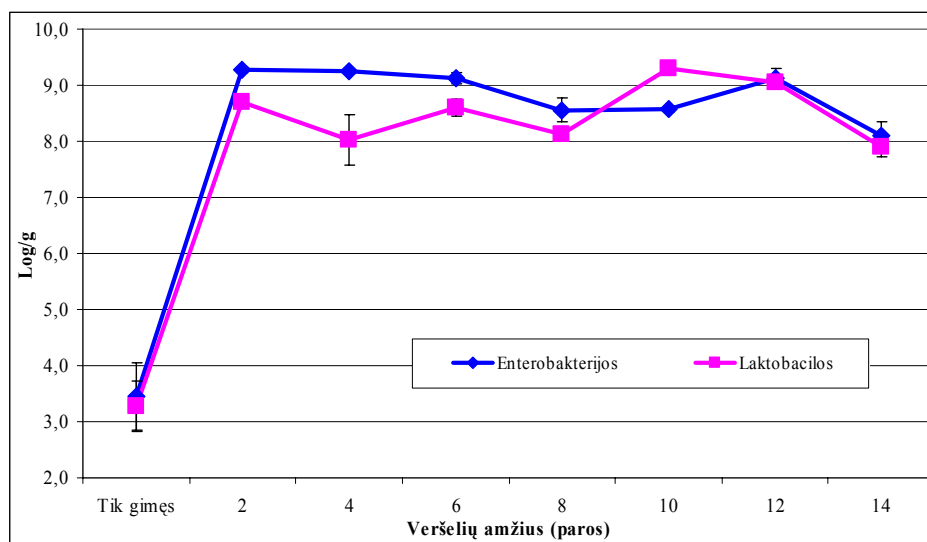
grupės veršeliai su krekenomis du kartus per parą gavo liofilizuoto preparato, kurio 1g *Lactobacillus plantarum* yra  $6 \times 10^8$  KfV, o *Lactobacillus fermentum* –  $2 \times 10^7$  KfV. Preparato paros dozė – 4g – buvo duodama nuo veršelio gimimo iš eilės aštuonias paras, o kitas šešias paras tiriamosios grupės veršeliai preparato negavo. Kontrolinės grupės veršeliai visas 14 parų preparato negavo.

Fekalijų mėginiai buvo imami į sterilius indelius kas antrą dieną 14 parų iš eilės sugirdžius rytinį preparatą, sukėlus veršeliams defekaciją. Buvo atliekamas išmatų mikrobiologinis tyrimas, kurio metu nustatytas bendras laktobacilų ir enterobakterijų kiekis bei jų tarpusavio santykis. Pirmas mėginys (mekonijos) buvo paimtas prieš sugirdant pirmą krekenų ir liofilizuotą preparatą.

Mikrobiologiniam tyrimui naudota 1g išmatų, kurios santykiu 1:99 buvo suspenduojamos fiziologiniame tirpale. Toliau atlikti serijiniai skiedimai santykiu 1:9 iki  $1 \times 10^7$ . Atliekant serijinius skiedimus mėgintuvėliai sukratyti homogenizatoriumi MS1 (IKA, JAV). Tiriamoji medžiaga po 0,1 ml iš  $1:10^4$ - $1:10^7$  skiedimų (naujagimių mekonijų iš  $1:10^2$ - $1:10^3$ ) buvo užsėjama ant atitinkamų terpių Petri lėkštelėse. Laktobaciloms nustatyti buvo naudojamas MRS (de Man, Ragosa, Sharpe) agaras (Liofilchem, Italija), enterobakterijoms – McConkey agaras, XLD agaras, SS agaras (Liofilchem, Italija) ir Levino agaras (Merck). Rezultatai vertinti iš trijų analogiškų mėginių. Mikroorganizmų KfV apskaičiuoti pagal LST ISO 7218:2000. Nustatytas laktobacilų ir enterobakterijų kiekis pateikiamas logaritmine išraiška.

Duomenys apdoroti statistinės analizės metodu (Juozaitienė ir kt., 2001) *WinExcel* programa ir R statistiniu paketu (ANOVA).

**Tyrimų rezultatai.** Bendras tirtų naujagimių veršelių fekalijų enterobakterijų ir laktobacilų kiekis bei jų tarpusavio santykis pateiktas 1 ir 2 diagramose.



1 diagrama. Enterobakterijų ir laktobacilų santykis fekalijose kontrolinėje naujagimių veršelių grupėje

Nustatyta, kad ką tik gimusio veršelio mekonijose bendras laktobacilų ir enterobakterijų kiekis yra labai mažas ir svyruoja nuo  $10^2$ /g iki  $10^4$ /g. Kitomis tyrimo paromis bendras laktobacilų ir enterobakterijų kiekis svyravo nuo  $10^8$ /g iki  $10^9$ /g.

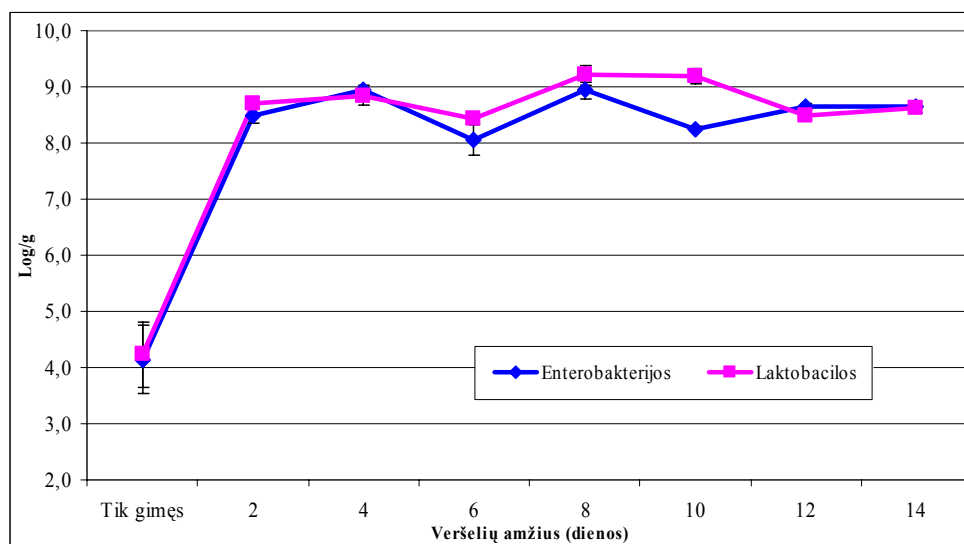
Iš 1 diagramos matyti, kad kontrolinės grupės

naujagimių veršelių fekalijose pirmas aštuonias paras vyrauja enterobakterijos. Jos laktobacilų atžvilgiu antrą parą dominuoja 6,6%, ketvirtą – 15%, šeštą – 6,2%, aštuntą – 5,2%. Tačiau santykis statistškai nepatikimas. Ketvirtą parą kontrolinėje grupėje vienam veršeliui nustatyti diarėjos požymiai, tuo tarpu tiriamosios grupės

(2 diagrama) veršeliams diarejos požymiai nepasireiškė. Dešimtą veršelių gyvenimo parą pastebėtas 7,8% laktobacilų dominavimas enterobakterijų atžvilgiu ( $0,1 > p > 0,05$ ). 12-tą ir 14-tą veršelių gyvenimo parą enterobakterijų ir laktobacilų tarpusavio santykis fekalijose nustatytas nežymus ir statistiškai nepatikimas.

Tiriamajoje veršelių grupėje (2 diagrama), kuri gavo liofilizuotą *L. plantarum* U-14 ir *L. fermentum* U-5 padermių, pirmąsias aštuonias paras enterobakterijų ir

laktobacilų tarpusavio santykis buvo nežymus ir statistiškai nepatikimas ( $p > 0,05$ ). Tačiau nustatyta, kad jau nuo antros paros laktobacilos tiriamajoje grupėje dominuoja enterobakterijų atžvilgiu 2–4%. Ryškiai laktobacilos enterobakterijų atžvilgiu dominavo dešimtą parą – 10,1% ( $0,1 > p > 0,05$ ). 12-tą ir 14-tą parą nustatyta, kad veršelių išmatose skirtumas tarp laktobacilų ir enterobakterijų buvo labai nežymus (1–2%) ir statistiškai nepatikimas.



2 diagrama. Enterobakterijų ir laktobacilų santykis fekalijose tiriamajoje naujagimių veršelių grupėje

Susumavus atskirų grupių viso tyrimo rezultatus nustatyta, kad kontrolinėje grupėje viso tyrimo metu vyravo enterobakterijos ( $p < 0,01$ ), o tiriamajoje grupėje – laktobacilos ( $p < 0,05$ ).

Nustatant veiksnių įtaką R statistiniu paketu, buvo atlikta dispersinė analizė.

Nustatyta, kad *Lactobacillus plantarum* U-14 ir *Lactobacillus fermentum* U-5 didžiausią patikimą ( $p < 0,001$ ) įtaką turėjo bendram enterobakterijų kiekiui. Taip pat dispersinė analizė parodė, kad bendram laktobacilų ir enterobakterijų kiekiui įtakos turi ir kiti veiksniai, tokie kaip veršelių amžius ir individualios savybės.

**Rezultatų aptarimas.** Gyvulys gimsta sąlyginai sterilus, ir priklausomai nuo to, kokia mikroflora pradės vystytis jo organizme, priklausys ir jo atsparumas virškinimo trakto ligoms. Dažniausia jaunų gyvulių ligų ir gaišimo priežastis yra viduriavimas, sukeliamas patogeninių *Escherichia coli* padermių (Hobson, Stewart, 1997). S. O. Mann ir kitų mokslininkų atliktas bandymas su gnotobiotiniais ėriukais (1980) parodė, kad ketvirtą gyvenimo dieną ėriukas, užkrėstas patogenine *E. coli*, šeštą dieną suserga, o aštuntą – gaišta. Tokio gyvulio išmatose nustatyta labai daug *E. coli*. Tačiau, kitiems ėriukams pirmąją gyvenimo dieną sudavus *Lactobacillus casei* ir *L. acidophilus*, po to penktą arba septintą dieną užkrėtus *E. coli*, ligos požymiai nepasireiškia. Taip pat *E. coli* neišauga iki tokio kiekio, kaip pirmuoju atveju.

Kad virškinimo trakto mikrobinėje populiacijoje vyrautų šeiminingo organizmui naudingos bakterijos, galima naujagimiams duoti probiotinių mikroorganizmų. Mes davėme dvi laktobacilų padermes – *Lactobacillus*

*plantarum* U-14 ir *Lactobacillus fermentum* U-5, pasižyminčias geromis probiotinėmis savybėmis (Sederevičius ir kt., 2001).

Kontrolinėje grupėje tyrimo rezultatai parodė, kad veršelio virškinimo trakte pirmą gyvenimo savaitę laktobacilų atžvilgiu vyrauja enterobakterijos. Tačiau dėl mažo gyvulių skaičiaus šis laktobacilų ir enterobakterijų santykis statistiškai nepatikimas. Pastebėta, kad tiriamajai grupei nuo pirmos veršelio gyvenimo dienos duodant liofilizuotą preparatą, bendras enterobakterijų kiekis fekalijose sumažėja. Taip pat sumažėja enterobakterijų ir laktobacilų tarpusavio santykis. Tiriamajoje ir kontrolinėje grupėse dešimtą parą nustatytas žymiai didesnis laktobacilų skaičius palyginti su enterobakterijomis (7,8–10,1%), jų santykis turi tendenciją kisti ( $0,1 > p > 0,05$ ). A. Sederevičius ir kiti mokslininkai nustatė (1994), kad didžiausias laktobacilų skaičius ( $9,57 \pm 0,7$  log/g) veršelių fekalijose yra dešimtą veršelių gyvenimo dieną ir kinta priklausomai nuo veršelių amžiaus. Dvyliktą ir keturioliktą parą bendras laktobacilų ir enterobakterijų santykis tiriamajoje ir kontrolinėje grupėse siekė tik 1–2%, mat laktobacilų padermės tiriamosios grupės veršeliams buvo profilaktiškai duodamos tik pirmas aštuonias gyvenimo paras.

Atlikus veiksnių dispersinę analizę nustatyta, kad liofilizuotas preparatas labiausiai darė įtaką bendram enterobakterijų kiekiui ( $p < 0,001$ ) ir jį sumažino. Šis rezultatas sutampa su P. N. Hobson ir C. S. Stewart 1997 metais pateikta išvada, kad laktobacilos mažina *E. coli* kiekį išmatose. Enterobakterijų mažėjimą galima paaiškinti ankstesniais tyrimais, kuriais nustatyta, kad *L. plantarum* U-14 ir *L. fermentum* U-5 pasižymi stipriomis

antagonistinėmis savybėmis enterobakterijoms *in vitro* (Sederevičius ir kt., 2001). Dispersinė analizė parodė, kad veršelių amžius ir individualios veršelių savybės taip pat turi įtakos bendram laktobacilų ( $p < 0,01$ ) ir enterobakterijų ( $p < 0,01$ ) kiekiui abiejų grupių veršelių fekalijose.

Tiriamajoje ir kontrolinėje grupėse susumuoti visų parų rezultatai parodė, kad *Lactobacillus plantarum* U-14 ir *Lactobacillus fermentum* U-5 turėjo statistiškai patikimos įtakos bendram laktobacilų ir enterobakterijų santykiui: kontrolinėje grupėje viso tyrimo metu patikimai vyravo enterobakterijos ( $p < 0,01$ ), o tiriamajoje grupėje – laktobacilos ( $p < 0,05$ ).

#### Išvados.

1. *Lactobacillus plantarum* U-14 ir *Lactobacillus fermentum* U-5 padermės patikimai darė įtaką bendram laktobacilų ir enterobakterijų santykiui viso tyrimo metu.

2. Liofilizuotas preparatas daugiausia įtakos turėjo bendram enterobakterijų kiekiui ( $p < 0,001$ ) ir jų kiekį sumažino.

**Padėka.** Nuoširdžiai dėkojame doc. dr. Vidai Juozaitienei už pagalbą naudojantis R statistiniu paketu.

#### Literatūra

- Abe F., Ishibashi N., Shimamura S. Effect of administration of *Bifidobacteria* and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *J. Dairy Sci.* 1995. Vol. 78. Issue 12. P. 2838–2846.
- Bengmark S. Immunonutrition: role of biosurfactants, fiber, and probiotic bacteria. *Nutrition.* 1998. Vol. 14. Iss. 7–8. P. 585–594.
- Bezkorovainy A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2001. Vol. 73. No. 2. P. 399–405.
- Burns A. J., Rowland I. R. Anti-Carcinogenicity of Probiotics and Prebiotics. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 2000. Vol. 1. Issue 1. P. 13–24.
- Fuller R. Probiotics in man and animals. *J. App. Bacteriol.* 1989. Vol.66. P. 365–378.
- Fuller R. & Gibson GR. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand. J. Gastroenterol.* 1997. Vol. 222. P. 28–31.
- Fumiaki Abe, Norio Ishibashi, Seiichi Shimamura. Effect of Administration of *Bifidobacteria* and Lactic Acid Bacteria to Newborn Calves and Piglets. *J Dairy Sci.* 1995. Vol. 78. P. 2838–2846.
- Hobson P. N., Stewart C. S. The rumen microbial ecosystem. Second edition. London. Blackie academic & professional. 1997. P. 667.
- Guillot J. F. Les probiotiques en alimentation animale. *Cahiers Agricultures.* 1998. Vol. 7. N. 49–54.
- Juozaitienė V., Kerzienė S. Biometrija ir kompiuterinė duomenų analizė. Kaunas. 2001. 114 p.
- Kimura K., McCartney A. L., McConnell M. A & Tannock G. W. Analysis of fecal populations of bifidobacteria and lactobacilli and investigation of the immunological responses of their human hosts to the predominant strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. Vol. 63. N. 9. P. 3394–3398.
- Laniewska-Moroz L., Warminska-Radyko I., Dajnowiec M., Galazka J. Antibacterial effect of bacteriocins isolated from *Lactobacillus* strains on selected Gram-negative pathogen. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences.* 2001. Vol. 10/51. No. 3. P. 25–28.
- Mann S. O., Grant C., Hobson P. N. Interactions of *E. coli* and lactobacilli in gnotobiotic lambs. *Microbiol. Lett.* 1980. Vol. 15. P. 141–144.
- Mitsuoka T. The human gastrointestinal tract. In: Wood BJB (Ed) *The Lactic Acid Bacteria. The lactic acid bacteria in health and disease.* Elsevier Applied Science, London. 1992. Vol 1 P. 69–114.
- Perdigón G., Fuller R., Raya R. Lactic Acid Bacteria and their Effect on the Immune System. *Current Issues in Intestinal Microbiology.* 2001. Vol. 2. Issue 1. P. 27–42.
- Sederevičius A., Kantautaitė J., Sutkevičienė R., Oberauskas V., Bižokas V. *L. plantarum* U-14, *L. fermentum* U-5 padermių ir jų mišinio pH, titruojamojo rūgštingumo ir gyvybingumo kitimas. *Veterinarija ir zootechnika.* Lietuvos veterinarijos akademija, 2001. T.14 (36). 52–57 p.
- Sederevičius A., Kantautaitė J., Sutkevičienė R., Oberauskas V., Bižokas V. Laktobacilų padermių savybių tyrimai. *Veterinarija ir zootechnika.* Lietuvos veterinarijos akademija, 2001. T. 16 (38). 65–67 p.
- Sederevičius A., Šileika V., Sutkevičienė R., Šiugždaitė J. Laktobacilų bendro skaičiaus ir *Lactobacillus plantarum* dinamika veršelių fekalijose. *Veterinarija.* 1994. T. 22. 95–98 p.
- Sederevičius A., Valionis E., Šiugždaitė J., Šileika V. Profilaktinis ir gydomasis Biosano poveikis veršeliams. *Veterinarija.* 1994. T. 22. 99–105 p.
- Simon O., Jadamus A., Vahjen W. Probiotic feed additives – effectiveness and expected modes of action. *Journal of Animal and Feed Sciences.* 2001. Vol. 10. N. 1. P. 51–67.
- Tannock GW, Crichton C., Welling GW, Koopman JP & Midtvedt T. Reconstitution of the gastrointestinal microflora of lactobacillus-free mice. *Appl. Environ. Microbiol.* 1988. Vol. 54. N. 12. P. 2871–2975.
- Wallace R. J., Newbold C. J. Probiotics for ruminants. In: R. Fuller (Editor). *Probiotics – the scientific basis.* Chapman and Hall, London. P. 316–353.
- Бовкун Г. Ф., Семенихина В. Ф., Ткачев Н. Д. Лечебное действие Бифинорма при микробиологических нарушениях кишечника у телят. *Ветеринария.* 1999. №. 4. С. 39–40.
- Квасников Е. И., Нестеренко О. А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М.: «Наука», 1975. С. 235-242.
- Сидоров М. А., Суботин В. В., Данилевская Н. В. Нормальная микрофлора животных и ее коррекция пробиотиками. *Ветеринария.* 2000. №. 11. С. 17–21.