

## ПОТЕНЦІЮВАННЯ ПРОБІОТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЗА СИМУЛЬТАННОГО ВИКОРИСТАННЯ *AEROCOCCUS VIRIDANS* І *MYSOBACTERIUM VACCARAE*

*І. А. Бібен, канд. вет. наук, доцент,  
О. І. Сосницький, д-р вет. наук, професор,  
В. В. Зажарський, канд. вет. наук, доцент,  
А. О. Сосницька, студентка магістратури ФВМ  
Н. Г. Усєєва, старший викладач*

Дніпровський державний аграрно-економічний університет,  
вул. С. Єфремова 25, м. Дніпро, 49600, Україна  
[bibenvet@ukr.net](mailto:bibenvet@ukr.net)

*У сучасному тваринництві використовуються прогресивні інтенсивні технології утримання і продуктивної експлуатації тварин, які є економічно ефективними, але виснажують фізіологічні резерви організму і призводять до небажаних патофізіологічних змін комплексного характеру. Знижується імунореактивний потенціал інтегральних і цензорних систем макроорганізму, змінюється метаболічна активність ферментних комплексів на рівні клітин і органів, зменшується антимікробна резистентність і порушується кількісний і якісний склад нормофлори покривних тканин і порожнинних органів. Виснажуючий технологічний стрес призводить до системних патологій інфекційного і неінфекційного походження та погіршенню стану здоров'я і благополуччя тварин.*

*Одним із фізіологічних шляхів корекції системної патології на підставі пошкодження нативних біозахисних механізмів макроорганізму є використання резидентних прокаріот мікробіоти штучно культивованих і заданих *per os* в якості кормової дієтичної добавки. В наших дослідженнях ми ізолювали від здорових курчат-бройлерів пробіотичні культури *A. viridans* і *M. vaccae*, вивчили їх біологічні властивості, встановили їх біобезпечність для тварин і визначили пробіотичні потенції при моновалентному застосуванні і в асоціації. Було показано, що комбіноване застосування пробіотичних прокаріот значно краще стимулює імунореактивні потенції макроорганізму і в асоціації підвищується колонізаційні спроможності індигенних прокаріот. Ізольовані пробіотичні культури резидентної мікробіоти придатні для виготовлення пробіотиків і симбіотиків для сільськогосподарських і домашніх тварин та застосування з профілактичними і терапевтичними цілями як в монокультурі, так і в асоціації.*

*Симультанне використання асоціації пробіотиків більш ефективно, ніж монокультур. Задавати пробіотики з кормом в симбіотичних асоціаціях і в моновалентному стані необхідно перманентно.*

**Ключові слова:** ПРОБІОТИКИ, БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ, *AEROCOCCUS VIRIDANS*, *MYSOBACTERIUM VACCARAE*, ІМУНОРЕАКТИВНІСТЬ, СИМБІОТИЧНА АСОЦІАЦІЯ.

## POTENTIATION OF PROBIOTIC ACTIVITY BY SIMULTANEOUS USE OF *AEROCOCCUS VIRIDANS* AND *MYCOBACTERIUM VACCAE*

I. A. Biben, O. I. Sosnytskyi, V. V. Zazharskyi, A. O. Sosnytska, N. G. Useeva

Dnipro State Agrarian and Economic University  
St. S. Yefremova 25, Dnipro, 49600, Ukraine  
bibenvet@ukr.net

In modern animal husbandry, progressive intensive technologies for keeping animals and the productive exploitation of animals are economically efficient, but they deplete the physiological reserves of the body and lead to undesirable pathophysiological changes of a complex nature. The immune-reactive potential of the integral and censoring systems of the macroorganism decreases, the metabolic activity of enzyme complexes at the level of cells and organs changes, antimicrobial resistance decreases, and the quantitative and qualitative composition of the normal flora of the covering tissues and hollow organs is disturbed. The stress of debilitating technological leads to systemic pathologies of infectious and non-infectious origin and deterioration of the health and well-being of the animals.

One of the physiological ways of correcting the systemic pathology based on damage to the native bioprotective mechanisms of the macroorganism is the use of resident prokaryotes of the microbiome artificially cultivated and given per os as a feed dietary supplement. In our research, we isolated probiotic cultures of *A. viridans* and *M. vaccae* from healthy broiler chickens, studied their biological properties, established their biosafety for other animals, and determined probiotic potencies when used monovalently and in association. It was shown that the combined use of probiotic prokaryotes significantly improves the stimulation of the immune-reactive potential of the macroorganism and, in association, increases the colonization capabilities of indigenous prokaryotes. Isolated probiotic cultures of the resident microbiota are suitable for the production of probiotics and symbiotics for farm and domestic animals and for prophylactic and therapeutic use both in monoculture and in association. Simultaneous use of probiotic associations is more effective than monocultures.

**Keywords:** PROBIOTICS, BIOLOGICAL PROPERTIES, *AEROCOCCUS VIRIDANS*, *MYCOBACTERIUM VACCAE*, IMMUNOREACTIVITY, SYMBIOTIC ASSOCIATION.

Імунобіологічний статус макроорганізму є базисом для ефективного функціонування всіх систем і органів тварин і птиці в тваринництві для їх профіцитного утримання. Навколишнє середовище й інтенсивні технології відгодівлі і продуктивної експлуатації в тваринництві діють як мультистресові виснажуючі фактори, які можуть викликати патофізіологічні зміни і дезадаптивний синдром з негативними наслідками для стану здоров'я і благополуччя тварин (Johnson et al., 2000; Kravtsiv et al., 2004; Berezovskyi et al., 2013; Magee & Ward, 2015; Gotsulia et al., 2018).

Для корекції імунопатологічного стану індукованого зовнішніми і внутрішніми чинниками необхідно застосовувати профілактичну неспецифічну імунокорекцію із застосуванням препаратів, які володіють загально стимулюючою дією, що призводить до покращення показників неспецифічної імунореактивності макроорганізму, підвищує адаптивні можливості і внутріклітинний метаболізм, нормалізує механізми імунної відповіді в клітинному і гуморальному аспекті реагування.

Одним з перспективних напрямків пошуку ефективних неспецифічних імуномодуляторів є вивчення біологічних властивостей прокаріот мікробіоти як резидентного пулу, так і факультативних мікробіонтів тіла тварин, які тісно контактують з ними внаслідок контамінації об'єктів зовнішнього середовища. Це положення ґрунтується на результатах

широкого застосування в галузі біотехнології і мікробіальної екології численних пробіотичних біопрепаратів, створених з бактеріальних культур ентеробактерій – кишкової палички, ентеробактеру, біфідобактерій, пропіоновокислих бактерій, лактобактерій і бацил-антракоїдів. Дуже ефективними пробіотиками виявились аерококи *A. viridans* і деякі сапрофітні нетуберкульозні мікобактерії, зокрема *M. vaccae*. Ці прокаріоти широко розповсюджені в навколишньому середовищі – в ґрунті і на рослинах. В організм поступають з кормом і при контакті з іншими тваринами або екскрементами. *A. viridans* і *M. vaccae* типові індигенні прокаріоти з пробіотичними властивостями, які перебувають в макроорганізмі в стані фізіологічної норми, відіграють роль нативних біостимуляторів метаболічної активності і неспецифічної резистентності, а при патологічних процесах, внаслідок різкої зміни кислотно-лужного балансу і накопичення вільнорадикальних груп, токсичних речовин і ксенобіотичних елементів виводяться з внутрішнього середовища, як некомфортного екологічного субстрату з незадовільною ефективністю репродукції мікробіонта-реплікатора. Тому їх перманентне застосування як з профілактичною метою, так і з лікувальними цілями біологічно обґрунтоване і фізіологічно показане (Guarner et al., 2008; West et al., 2009; Makarova, 2010; Gortazar et al., 2015; Zazharskyi et al., 2021).

Пробіотичні культури *A. viridans* і *M. vaccae* володіють вираженим загально біологічним позитивним впливом на макроорганізм і відносяться до біологічно активних субстанцій, які увійшли в арсенал біотехнології ветеринарної медицини в останні 10-15 років (Martin-Casabona et al., 2004; Biben et al., 2018, 2019; Kassich et al. 2019).

Резидентні культури *A. viridans*, які ізолювані з клінічно здорового організму володіють активними пробіотичними потенціями і є біоіндикатором фізіологічного стану, тому що при патологічних процесах запального або дистрофічного характеру вони виводяться зі складу мікробіоти, внаслідок чого їх треба вводити *per os* перманентно. При антибіотикотерапії і інфекційних процесах за участю патогенних мікобактерій, вони теж звільнюються з організму. Тому цей мікроорганізм є незамінним і облігатним у складі мікробіоти здорового організму.

*A. viridans* – це грампозитивні каталазонегативні убіквітарні індигенні представники мікробіоти тварин, тваринницької продукції і навколишнього середовища, яке контаміновано виділеннями тварин. Пробіотична і антимікробна дія *A. viridans* обумовлена здатністю прокаріота продукувати пероксид водню і супероксидний радикал внаслідок функціонування NAD-незалежної лактатоксидази і піруватоксидази (Chernyayev, 2002; Ryzhenko, 2005; Biben et al., 2018; Zazharskyi et al., 2020).

Відповідно до таксономії Берджи, *Mycobacterium vaccae* відносять до типу *Actinobacteria*, класу *Actinobacteria*, ряду *Corynebacteriales*, родини *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*, де входять до асоціації нетуберкульозних мікобактерій (NTM – Nontuberculous mycobacteria) IV групи за класифікацією Раньона, як «атипові мікобактерії». *M. vaccae* відносять до убіквітарної універсальної мікрофлори ґрунту, навколишнього середовища і мікробіоти тварин, мігруючи в широких колах екологічної ніші нативних умов існування. Вони є резидентними мікробіонтами покривних тканин і травневого тракту тварин, де відіграють важливу роль в підтриманні якісного складу мікробіоти, конкуруючи з транзиторною амоніфікуючою асоціацією прокаріот різного таксономічного підпорядкування. *M. vaccae* є нативними імуномодуляторами імунобіологічних реакцій макроорганізму на антигенний стимул імунопатологічних подразнень біогенного і абіогенного походження. Для перманентного імуномодулювального впливу *M. vaccae* на фізіологічні функції макроорганізму потрібен постійний контакт з непатогенними представниками екзогенної мікробіоти, що найбільш оптимально робити за допомогою використання кормових дієтичних добавок, які вміщують асоціації пробіотиків, і перш за все *M. vaccae* і *A. viridans* (Johnson et al., 2000; Biben et al., 2019; Zazharskyi et al., 2021).

Мета дослідження – вивчити біологічні властивості і пробіотичні потенції індигенних прокаріот, а саме: резидентного штаму «Паскаль-6» *Aerococcus viridans* та екологічної культури *M. vaccae* штам «К» в моновалентних варіантах та в симбіотичній асоціації.

**Матеріали і методи.** Бактеріологічні і імунобіологічні дослідження проводили в лабораторії біотехнології і віварії кафедри інфекційних хвороб і в лабораторії біохімії НДЦ ФВМ ДДАЕУ.

Морфологічні і тинкторіальні властивості резидентного штаму «Паскаль-6» *Aerococcus viridans* вивчали за фарбування мазків за Грамом і Романовським-Гімза.

Адаптовану культуру пробіотика культивували на простих середовищах – МПБ і МПА, а накопичення бакмаси прокаріота проводили на збагачених рідких живильних середовищах – МПБ на основі перевару Хотингера за 37-38 °С впродовж двох діб.

Культуральну ізоляцію *Aerococcus viridans* штам «Паскаль-6» проводили за допомогою висіву біоматеріалу на індикаторне середовище такого складу: КЖ-30,0; розчинний крохмаль-10,0; МПА-30,0; вода – ad 1000,0. Стерилізували автоклавуванням 30 хв за 121 °С.

Культивування пробіотичної культури *Mycobacterium vaccae* штам «К» здійснювали на модифікованому рідкому середовищі Сотона, для чого воду в сольовому розчині замінили на концентрований відвар картоплі, в глікокол – на L-аспарагін ana partes. Стерилізували дробно текучою парою в автоклаві. Адаптацію мікобактерій до рідкого середовища Сотона проводили через отримання біоплівки в конденсаційній рідині середовища Павловського. Після формування біоплівки через два тижні за 37-38 °С її переносили на поверхню модифікованого середовища Сотона і культивували за 37-38 °С впродовж 30-40 діб. Після контролю бактеріальної чистоти за допомогою фарбування за Грамом і Циль-Нільсенем, зважували необхідну кількість біомаси прокаріоту і використовували в дослідках.

Патогенність пробіотичної культури мікобактерій визначали при інфікуванні 4 мурчаків, живою масою 250-300 г, підшкірно, в ділянці паху в об'ємі 1 мг/см<sup>3</sup> за 37-38 °С. Спостерігали один місяць, потім проводили симультанну алергічну пробу ППД і ААМ згідно з інструкцією і евантазію. Відбирали кров для серологічних реакцій з мікобактеріальними антигенами.

Загальні пробіотичні потенції кожного прокаріот визначали на білих мишах, живою масою 20-22 г. Створили по дві рандомізовані групи мишей по 6 тварин, контрольну і дослідну. Останнім задавали рег ос кожний день по 1 мг бакмаси пробіотика і спостерігали впродовж місяця. Враховували різницю в живій масі, збереженість поголів'я і за імунобіологічними показниками макроорганізму в клітинно-опосередкованих реакціях.

Для визначення стимулювальної дії пробіотиків на імунобіологічну активність макроорганізму вивчали клітинно-опосередковані реакції і для цього використовували мононуклеари периферичної крові рандомізованих морських свинок, живою масою 300-350 г. Отримували клітинну суспензію мононуклеарів відбором крові пунктатом серця мурчаків і далі центрифугували її в концентрації 2×10<sup>6</sup> кл/см<sup>3</sup> у градієнті щільності фікол-верографіну за d=1,077 г/см<sup>3</sup>. Життєздатність клітин крові визначали в тесті з трипановим синім, для дослідів використовували суспензію крові при наявності не менш 95 % життєздатних мононуклеарів.

Експресію рецепторів Т-лімфоцитів під впливом пробіотичних мікроорганізмів оцінювали визначенням кількості загальних Е-розеткоутворюючих клітин у тесті кооперації з еритроцитами барана і високо авідних чи активних Еа-РУК, що мають рецептори значного афінитету цих еритроцитів і активно приєднуються до них без допоміжної інкубації за температури 4-6 °С.

Експресію рецепторів на В-лімфоцитах під впливом пробіотичних мікроорганізмів оцінювали визначенням кількості розеткоутворюючих клітин з еритроцитами барана, які були навантажені імуноглобулінами і білками системи комплементу, тобто ЕАС-РУК. У дослідних тварин відбирали суспензію лімфоцитів в об'ємі 1 см<sup>3</sup>, встановлювали концентрацію 2×10<sup>6</sup> кл/см<sup>3</sup> і інкубували спільно з зависсю добової пробіотичної культури з накопичення мікробних

клітин  $1 \times 10^9$  кл/см<sup>3</sup> в об'ємі 0,05 см<sup>3</sup> за кімнатної температури впродовж 2 год, після її центрифугували 5 хв за 1000 об/хв. Отриману суспензію лімфоцитів з пробіотиком ресуспензували і використовували для визначення Е-РУК, Еа-РУК, ЕАС-РУК. В контролі мікробіальну культуру пробіотиків заміняли забуференими фосфатами ізотонічним розчином з нейтральним рН.

Вплив пробіотиків на систему комплементу сироватки крові вивчали шляхом дослідження рівня активності білків системи комплементу за 50 % показником гемолізу. Для цього дослідні проби сироватки крові об'ємом 0,2 см<sup>3</sup> витримували з 0,05 см<sup>3</sup> суміші лейкоцитів і лімфоцитів + 0,01 см<sup>3</sup> добової культури мікробіонтів на ФБР впродовж 30 хв за кімнатної температури, тобто 20-22 °С. В контрольному зразку замість зависі прокариотів використовували ФБР у відповідному об'ємі.

Отримані кількісні показники дослідів обробляли на РС з використанням пакету прикладних програм «Excel» з рівнем вірогідності не нижче  $P \leq 0,05$ . При цьому визначали середню вибірку та її стандартну похибку, вірогідність перевіряли за критерієм Ст'юдента.

**Результати й обговорення.** При мікробіологічному обстеженні загальноприйнятими бактеріологічними методами здорових курчат-бройлерів на відгодівлі в ТОВ «Корпорація Паскаль» Синельниківського району Дніпропетровської області, яким випоювали в якості кормової добавки 10 % гумат калію із загальної проби посліду від дослідної групи були ізольовані та ідентифіковані біологічно активні пробіотичні культури *Aerococcus viridans* штам «Паскаль-б» і *Mycobacterium vaccae* штам «К», які були придатні для використання в виробництві біопрепаратів на основі живих культур пробіотичних прокариот.

Резидентний штам «Паскаль-б» *Aerococcus viridans* характеризувався такими базисними властивостями.

**Морфо-тинкторіальні властивості.** Прокариоти *Aerococcus viridans* штам «Паскаль-б» у мазках-відбитках з біоматеріалу або у мазках з агарових культур представлені нерухомими кулястими грампозитивними коками діаметром  $1,5 \pm 0,5$  мкм, розташованих парами чи скупченнями, а у мазках з культур вирощених в МПБ – здебільшого тетрадами. Капсул не синтезують.

**Культуральні властивості.** Факультативні анаероби та мікроаерофіли, швидкозростаючі прокариоти невибагливі до поживних середовищ. На МПА утворювали дрібні напівпрозорі білувато-сірі S-колонії 1 – 2 мм в діаметрі, викликали позеленіння ( $\alpha$ -гемоліз) на кров'яному 5 % МПА навкруги великих M-колоній. В МПБ викликали гомогенне помутніння, що мало тенденцію перетворюватися у зернистий осад. На індикаторному середовищі виникало характерне темно-фіолетове забарвлення навкруги колоній аерококу.

Температурний оптимум 37 – 38 °С, ростуть в діапазоні 10 – 42 °С, при 45 °С – зростання не відбувається, здатні рости на середовищах, що містять 6,5 % NaCl, чутливі до бацитрацину.

**Біохімічні властивості.** Хемоорганотрофи за окисним типом метаболізму, вуглеводи ферментували з утворенням кислоти без газу. Каталазо-негативні, желатин не розріджували, нітрати не відновлювали.

**Екологічні властивості.** Сапрофіти, входять до складу резидентної мікробіоти з пробіотичними потенціями, убіквітарні прокариоти широко розповсюджені в природних екосистемах. Методологія бактеріологічної ізоляції аерококів аналогічна таким при індикації стрептококів.

**Біохімічні властивості.** Ріст штаму детермінується наявністю в середовищі біотину, пантотенової і нікотинової кислот. Tween-80 заміняє потребу в біотині. Штам не реагував на відсутність вітамінів групи В: тіаміну, рибофлавіну, піридоксину, фолієвої і флавонової кислот. Для росту аерококів потрібні екзогенні пурини, але гуанін і ксантин взаємозамінні з аденіном. Штаму не потрібні екзогенні піримідини. Потреба в амінокислотах була варіабельна.

Штам при культивуванні в молоці з 1 % метиленової синьки, не відновлював останньої, підкислював молоко при відсутності згортання, желатину не розріджав, аргінін, крохмаль, ескулін не гідролізував. Аерококи продукували кислоту без газу при культивуванні на середовищах з глюкозою, мальтозою, лактозою, манітом, сахарозою. Ацетон не утворювали, рафінозу не зброджували, каталазу не продукували, коагулазу не синтезували.

При культивуванні в мікроаерофільних умовах в МПБ з 1 % глюкози – фінальне рН бульйону досягало 5,2 – 5,7, а в аеробних умовах штам продукував  $H_2O_2$ . Максимальна продукція перекису водню спостерігалась на початку експонеціальної фази росту, стаціонарна фаза – нетривала.

Оксидазну активність штаму визначали по здатності аерококів при своєму рості окисляти КІ до І на МПА. Як індикатор до середовища додавали розчинний крохмаль. Посіви інкубували 48 год за 37 – 38 °С. В позитивному випадку навколо штриха *Aerococcus viridans* штам «Паскаль-б» з'являлося темно-синє забарвлення, діаметром від 10 мм і більше.

Штам проявляв високу чутливість до антибіотиків.

*Біологічні властивості.* Штам апатогенний для тварин.

*Серологічні властивості.* Гіперімунні сироватки давали неспецифічні лінії преципітації з імунними сироватками ентеральних стрептококів.

Для накопичення бактеріальної маси пробіотичної культури *Aerococcus viridans* штам «Паскаль-б» використовували МПБ, в якому за 37 – 38 °С в аеробних умовах, стаціонарно або суспензійно, отримували необхідну кількість бактеріальної маси прокаріот. Сепарацію бактеріальної маси аерококів від рідкого живильного середовища після культивування проводили за допомогою центрифугування. Отриману бактеріальну масу пробіотичної культури суспендували у стерильному ізотонічному розчині.

Ізольована екологічна культура *Mycobacterium vaccae* штам «К» володіла такими базисними властивостями, які були притаманні для виду.

*Морфо-тинкторіальні властивості.* Прокаріоти *Mycobacterium vaccae* штам «К» у мазках пофарбованих за методом Ціля-Нільсена мали вигляд прямих паличок, довгих і коротеньких, яскраво-червоного кольору, які розташовані у полі зору поодинокі або скупченнями. Поряд з паличками зустрічались і кокові форми.

*Культуральні властивості.* Факультативні анаероби та мікроаерофіли, швидко зростаючи прокаріоти, адаптовані до елективних поживних середовищ, на яких культивують мікобактерії - середовищі Левенштейна-Йенсена, Stonebrink, Гельберга, Петраньяні, Павловського, Сотона, Школьникової і УНДІЕВ.

На яєчному щільному середовищі Левенштейна-Йенсена культури виростили на 4 – 5 добу культивування за 25 і 37 °С, з додаванням та без 5 % NaCl (проявляли толерантність до 5 % NaCl), з утворенням пігменту жовтого кольору в темряві і на світлі (властивість скотохромогенності). За 45 °С культура не росла (проявляли температурочутливість до 45 °С).

*Біохімічні властивості.* Культури були каталазоактивні, гідролізували твін-80, давали позитивну реакцію з телуритом К, проявляли амілазну активність, тобто проявляли позитивну реакцію на карбамід, нікотинамід, піроцинамід.

*Екологічні властивості.* Сапрофітні мікобактерії ґрунту і навколишнього середовища біогенного і абіогенного походження, входять до складу індигенної мікробіоти з вираженими імунотормуючими та пробіотичними потенціями, убіквітарні прокаріоти широко розповсюджені в живій і неживій природі.

*Біологічні властивості.* Штам апатогенний для тварин, є екологічним і індигенним прокаріотом, входить до складу нормобіоти тварин.

*Антигенні (сенсibilізувальні) властивості штаму і здатність до сероконверсії.* При парентеральному введенні мікобактеріальні прокаріоти викликають короткострокову сенсibilізацію до деяких родових мікобактеріальних антигенів, що проявляється реакцією на

ППД і ААМ. Штам викликає синтез Ig, які реєструються в традиційних серологічних реакціях з мікобактеріальними антигенами.

Для накопичення бактеріальної маси пробіотичної культури *Mycobacterium vaccae* штам «К» використовували елективне поживне середовище для культивування мікобактерій – модифіковане середовище Сотона. Адаптацію культури мікобактерій до рідкого середовища і отримання плівки для перенесення на поверхню рідкого середовища проводили на картопляному середовищі Павловського. Накопичення бактеріальної маси мікобактеріального прокаріоту проводили за температури 37 – 38 °С в аеробних умовах, в термостаті, впродовж одного місяця.

Сепарацію бактеріальної маси *Mycobacterium vaccae* штам «К» від рідкого живильного середовища після культивування здійснювали за допомогою центрифугування за 3000 об/хв впродовж 30 хв за температури навколишнього середовища не вище 20 °С. Отриману бактеріальну масу пробіотичної культури суспендували у стерильному ізотонічному розчині та використовували в досліді.

Експериментальні показники клітинно-опосередкованої імунної відповіді на дію прокаріот в моноваріанті і в асоціації в комфортних умовах утримання і при штучних умовах холодового стресу і інгібіції представлені в таблиці.

Таблиця

**Кількість лімфоцитів, реагуючих розеткоутворенням з еритроцитами барана під впливом пробіотичної культури *M. vaccae* (M±m, n=4)**

Прокаріоти	Е-РУК (%)		Еа-РУК (%)		ЕАС-РУК (%)	
	Комфортні умови утримання	Холодова інгібіція імунореактивності	Комфортні умови утримання	Холодова інгібіція імунореактивності	Комфортні умови утримання	Холодова інгібіція імунореактивності
<i>A. viridans</i>	61,2±5,2	59,3±3,9	21,5±1,9	19,4±0,9	23,4±1,1	22,3±1,2
<i>M. vaccae</i>	62,4±4,9	61,8±4,3	22,4±1,8	20,1±0,7	22,6±1,2	21,0±1,4
Суміш	62,6±4,7	60,1±3,7	23,1±1,5	22,5±0,6	24,1±0,9	23,4±1,3

На підставі даних таблиці видно, що під впливом пробіотичних культур як в монокультурі, так і в асоціації активність розеткоутворення лімфоцитів знаходиться в межах фізіологічної норми і відрізняється незначно як в абсолютному значенні, так і в порівнянні. Статистично вірогідної різниці між кількісними характеристиками активності розеткоутворення лімфоцитів не знайдено ( $P \geq 0,05$ ), тобто пробіотики стимулюють функціональну активність не вище фізіологічної межі, що є дуже позитивним ефектом при використанні біопрепаратів, показником їх м'якого фізіологічного впливу на макроорганізм.

Відносні кількості Е(активні)-РУК і розетки з еритроцитами неадсорбованими Ig і С варіювали в невеликому діапазоні значень в порівнянні з показниками отриманими при умовах інгібіції імунореактивності. Середні значення Еа-РУК в комфортних умовах утримання були в межах 21,5±1,9 – 23,1±1,5 проти 19,4±0,9 – 22,5±0,6 в некомфортних умовах з пробіотиками як в моноваріанті, так і в суміші; а ЕАС-РУК склали відповідно 22,6±1,2 – 24,1±0,9 в комфортних умовах проти 21,0±1,4 – 23,4±1,3 при холодівій інгібіції.

Одним з ефективних неспецифічних систем захисту організму від несингенних детермінант специфічності патогену є розвинена білкова система комплементу, яка виконує різноманітні функції при формуванні імунних комплексів. Функціональна неповноцінність, або її дисфункціональність можуть привести до важкого імунопатологічного стану та рецидивуючого інфекційного процесу. Виявлено прямий функціональний зв'язок між білковою системою комплементу і фагоцитарною активністю імункомпетентних клітин, тому що необхідною умовою опсонізації прокаріот є пряме чи опосередковане зв'язування Ig

з реактивними білками системи комплементу. Також система комплементу виконує важливі функції в регуляції імунобіологічної відповіді організму на антигенний стимул.

В нашому дослідженні тварин, які утримувались в умовах холодного стресу мали знижені показники активності системи комплементу, в середньому 49,0 гемолітичних одиниць, а після інкубації з пробіотичними прокаріотами збільшилась – для *A. viridans* до 56,4 гемолітичних одиниць і до 57,6 для *M. vaccae*, відповідно. За асоціативного використання суміші пробіотичних прокаріот, взаємодія пробіотичних прокаріот з компонентами системи комплементу і суспензією лейкоцитів призвела до незначного збільшення функціональної активності досліджуваної системи і становило для *A. viridans* до 69,2 гемолітичних одиниць проти 66,4 у контролі, а для *M. vaccae* – 71,4 гемолітичних одиниці проти 69,6 в контролі, відповідно. Це свідчить про те, що функціональна активність системи комплементу при контакті з пробіотичними індигенними дослідними мікроорганізмами підвищується незначно, в межах фізіологічної норми, тобто пробіотичні прокаріоти оказують імуномодулювальну дію як в моноваріанті, так і в асоціації. Асоціативне використання пробіотичних культур більш фізіологічне і природне.

## ВИСНОВКИ

1 *Aerococcus viridans* штам «Паскаль-6» – це резидентний, біологічно активний убіквітарний індигенний прокаріот з вираженими пробіотичними потенціями, отриманий в польових умовах з посліду здорових курчат-бройлерів на відгодівлі, придатний для виготовлення пробіотиків і симбіотиків для сільськогосподарських і домашніх тварин

2. *Mycobacterium vaccae* штам «К» – це екологічна і біобезпечна культура мікобактеріальних прокаріот, з вираженими індигенними, пробіотичними і імуномодулюючими властивостями, яка ізольована з посліду від здорових курчат-бройлерів на відгодівлі з використанням гумінових препаратів, придатна для виготовлення пробіотиків і симбіотиків з імуномодулюючими властивостями для сільськогосподарських і домашніх тварин

3. Симультанне використання пробіотичних культур *Aerococcus viridans* штам «Паскаль-6» і *Mycobacterium vaccae* штам «К» в якості кормової добавки для корекції імунобіологічного стану і нормофлори макроорганізму є більш ефективним внаслідок синергічного потенціювання біологічних властивостей і конкурентного домінування при колонізації внутрішнього середовища макроорганізму як резидентної екологічної ніші існування індигенних пробіотичних прокаріот.

**Перспективи досліджень.** Застосування пробіотичних мікроорганізмів є прогресивним і екологічним засобом корекції імунобіологічного стану макроорганізму, але використання моно-, бі- і тривалентних біопрепаратів є недостатньо фізіологічним, тому що мікробіота представлена нечисленною кількістю видів мікробіонтів не тільки різного таксономічного підпорядкування, а і з різних доменів – Bacteria & Archea & Vira. Тому вивчення видового складу мікробіоти та її резидентних представників, їх біологічних властивостей і пробіотичних потенцій в моноваріанті і в асоціаціях є перспективним і довгостроковим, стратегічним напрямком мікробіології і біотехнології.

## References

Berezovskyi, A.V., Fotina, G.A., Olefir, O.M. (2013). Industrial poultry farming: the problem of stress and ways to solve it. 11th International Congress of Veterinary Medicine Specialists, October 3-4, 2013. Kyiv. 2013. 46-47. [in Ukrainian].

Biben, I.A., Sosnytska, A.O., Udovyt'skyi, E.V., Zazharskyi, V.V. (2019). Immunobiological properties of field cultures of atypical mycobacteria. Scientific and technical bulletin of the State



Research Control Institute of Veterinary Medicines and Feed Additives and the Institute of Animal Biology. 20, 2. Lviv. 174 – 182. doi: 10.36359/scivp.2019-20-2.23 [in Ukrainian].

Biben, I.A., Zazharskyi, V.V., Sosnitska, A.A., Kolosova, V.S. (2018). Probiotic potency of *Aerococcus viridans* on biomodels of the body of white mice. *Veterinary biotechnology*. 32 (2). Bulletin. Kyiv. 37 – 45. [in Ukrainian].

Chernyaev, S.A. (2002). Heterogeneity of bacteria of the genus *Aerococcus* and their role in the development of new probiotics and control of their authenticity: Abstract. thesis ... candidate honey. *Sciences*: 25.10.02. Kharkiv. 22. [in Ukrainian].

Guarner, F., Khan, G.A., Garisch, J. et al. (2008). Probiotics and prebiotics [Electronic resource. World Gastroenterology Organization. Mode of access to the resource: <http://www.worldgastroenterology.org> / UserFiles/file/guidelines/probiotics-russian – 2008.hdf.

Gortazar, C., Che Amat, A., O'Brien, D.J. (2015). Open questions and recent advances in the control of a multi host infectious disease. *Mammal Review*. 45. 3. 160-175.

Gotsulia, A.S., Zazharskyi, V.V., Davydenko, P.O. (2018). Synthesis and antituberculosis activity of N<sup>2</sup>-(2-(5-((theophylline-7'-yl) methyl)-4-R-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetyl)isonicotinohydrazides Zaporizhzhia State Medical University. 20. 4 (109). 578-583.

Johnson, J.L., Kanya, R.M., Okwera, A. et al. (2000). Randomized controlled trial of *Mycobacterium vaccae* immunotherapy in non-Human immunodeficiency virus-infected Ugandan adults with newly diagnosed pulmonary tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 181. 1304 – 1312.

Kassich, V.Yu., Ukhovskiy, V.V., Sosnytskyi, O.I., Biben I.A., Zazharskyi, V.V., Kassich, O.V. (2019). Ecologically safe method to control the epidemic situation on animal tuberculosis in Ukraine. *The world of medicine and biology*, 2(68), 220 – 225. [in Ukrainian].

Kravtsiv, R.Y., Kutsyniak, I.V., Bilenchuk, R.V., Dashkovskiy O.O. (2004). Veterinary and sanitary control and assessment of the quality of poultry products. Lviv. 2004. 188. [in Ukrainian].

Magee, J.G. & Ward, A.C. (2015). *Mycobacterium*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 1-84.

Makarova, M.V. (2010). Vydelenie i identifikatsiya netuberkuleznyih mikobakteriy u patsientov fiziatricheskih uchrezhdeniy: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. Moskva, 48. [in Russian].

Martin-Casabona, N., Bahrmand, A.R., Bennedsen, J. (2004). Non-tuberculous mycobacteria: patterns of isolation, a multi-country retrospective survey. *The international journal of tuberculosis and lung disease the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 8,10. 1186-1193.

Ryzhenko, S.A. (2005). Hygienic assessment of aerococci in microbiocenoses of the human body in the conditions of anthropogenic environmental pollution. Diss. ... Dr. Med. Science: 14.02.01 - hygiene. Kyiv. 356. [in Ukrainian].

West, N.P., Pyne, D.B., Peake, J.M. et al. (2009). Probiotics, immunity and exercise: a review. *Exers. Immunol. Rev.* 15 (107). 107-126.

Zazharskyi, V., Parchenko, M., Parchenko, V., Davydenko, P., Kulishenko, O., Zazharska, N. (2020). Physicochemical properties of new S-derivatives of 5-(5-bromofuran-2-yl)-4-methyl-1, 2, 4-triazol-3-thiols. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*, (6), 50–58. doi:10.32434/0321-4095-2020-133-6-50-58. 6. 50-58. [in Russian].

Zazharskyi, V., Bigdan, O. A., Parchenko, V. V., Parchenko, M. V., Fotina, T., Davydenko, P., Kulishenko, O., Zazharska, N., Borovik, I. (2021). Antimicrobial Activity of Some Furans Containing 1,2,4- Triazoles. *Archives of Pharmacy Practice*. 12, 2. 60-65.