

УДК 619:579.842.14

Бібен І.А., к.вет.н., доцент ©

Дніпропетровський державний аграрний університет

**АНТАГОНІСТИЧНА ДІЯ AEROCOCCUS VIRIDANS AVIUM 21 ДО  
SALMONELLA PULLORUM - GALLINARUM IN VITRO**

Наводяться результати вивчення антагоністичної дії *Aerococcus viridans avium 21*, що продукує перекис водню, на *Salmonella pullorum-gallinarum*, *in vitro*. Установлено антагоністичну дію, що посилюється в кожній наступній генерації *S. pullorum-gallinarum*, при спільному вирощуванні з *A. viridans avium 21*. Припускається, що встановлений вплив, пов'язаний зі змінами біологічних властивостей сальмонел.

**Ключові слова:** *Aerococcus viridans avium 21*, *Salmonella pullorum-gallinarum*, антагонізм, перекис водню, повторний контакт, генерація.

**Вступ.** При виготовленні пробіотиків значна роль належить дослідженням щодо антагонізму мікроорганізмів. Явище антагонізму широко розповсюджене в природі. Особливе місце займає антагонізм мікроорганізмів, велика увага до якого виникла у зв'язку з відкриттям та широким впровадженням у ветеринарну та медичну практику антибіотиків. Ще в кінці ХІХ століття Л. Пастер та інші вчені звернули увагу на здатність одних мікроорганізмів пригнічувати ріст і розвиток інших. І.І. Мечніков показав можливість використання явища антагонізму мікроорганізмів з терапевтичною метою [1, 3, 6].

Вивченню продуцентів антибіотиків передують велика робота з дослідження антагонізму мікробів. Широке використання мають антагоністичні властивості мікробів, які виділені із організму сільськогосподарських тварин [2,4], що обумовлено значним розповсюдженням серед продуктивних ссавців та птиці хвороб органів травлення різної етіології.

Тому, питання пошуку нових ефективних шляхів корекції мікрофлори шлунково-кишкового тракту є одним з важливих у сучасній ветеринарній медицині. Найбільш виправданим, з екологічних позицій, методом санації бактеріоносіїв та збудників кишкової інфекції є застосування бактеріальних препаратів з живих мікроорганізмів, здатних проявляти антагоністичну і конкурентну дію до патогенних мікробів [1,3,8].

Останнім часом перспективним напрямком визнані вивчення і застосування для лікування і профілактики пробіотиків - препаратів із представників нормальної мікрофлори тварин. Одним з таких мікроорганізмів є *Aerococcus viridans avium 21*.

Родовід штаму

Kingdom: Bacteria

Phylum: Firmicutes  
Class: Bacilli  
Order: Lactobacillales  
Family: Aerococcaceae  
Genus: *Aerococcus*  
Species: *Aerococcus viridans*

Він виділений із грудного молока і виявлений у повітрі житлових приміщень [7,9], що є представником нормальної мікрофлори людини і тварин. Установлена його антагоністична активність щодо ряду груп патогенних бактерій. Ця активність аерококів обумовлена екскрецією бактерицидних концентрацій перекису водню [5,6].

**Мета дослідження** – визначити характер антагоністичної дії *Aerococcus viridans avium* 21 на *Salmonella pullorum-gallinarum* при повторних контактах, шляхом пасажу на рідких середовищах.

**Матеріали та методи досліджень.** Для проведення дослідження використовувався виділений у птиці штаб *Aerococcus viridans avium* 21, який продукує перекис водню, польовий патогенний штаб *Salmonella pullorum-gallinarum*, виділений у хворої на сальмонельоз птиці.

У 50 мл простого м'ясопептоного бульйону засівали 1 мл 20 млрд./мл суспензії свіжої культури *A. viridans avium* 21.

Після дводобової інкубації при 37<sup>0</sup>С визначали в культуральній рідині кількість перекису водню йодометричним методом і підсівали 0,1 мл 1 млрд./мл суспензії добової культури *Salmonella pullorum-gallinarum*. Після повторної добової інкубації при 37<sup>0</sup>С визначали кількість перекису водню в середовищі і кількість сальмонел, що вижили. Висів 0,1 мл культуральної рідини робили на середовище Чистовича та однопроцентний кров'яний агар для кількісного визначення в змісті в ній сальмонел (перша генерація).

Сальмонели, що вижили, у кількості 100 штамів відсівали для вивчення культуральних і біохімічних властивостей. Для отримання наступних генерацій сальмонел, що вижили, повторно підсівали до аерококів за вищеописаною методикою доти, поки в середовищі виявлялися життєздатні особини сальмонел. Паралельно проводилося пересівання *Salmonella pullorum-gallinarum* на м'ясопептоний бульйон без продуцентів перекису водню. Плазмокоагулюючі властивості *Salmonella pullorum-gallinarum* визначали за загальноприйнятою методикою.

**Результати та їх обговорення.** Встановлено, що з кожним наступним пересіванням кількість сальмонел, що вижили, у культуральній рідині з *A. viridans avium* 21 зменшувалося. Кількість сальмонел у м'ясопептоному бульйоні без аерококів, що продукують перекис водню, коливалося в межах значень визначених у першій генерації (табл. 1).

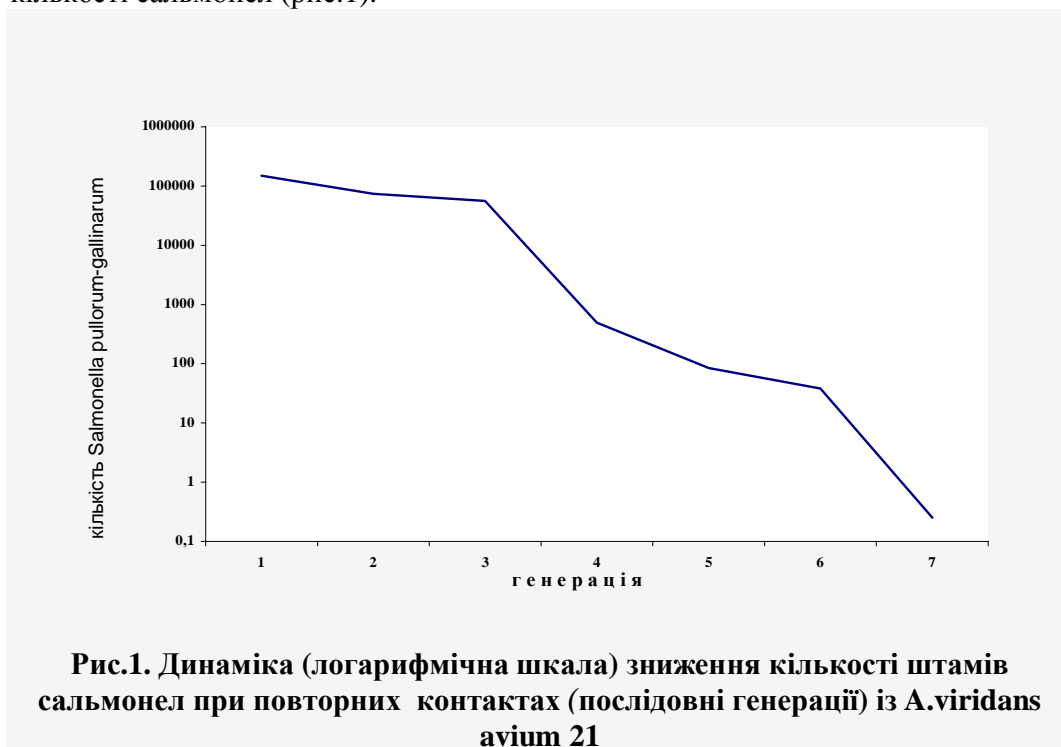
Таблиця 1

**Середня кількість сальмонел (у перерахуванні на 1 мл МПБ), що вижили після контакту з аерококами в МПБ; ( $M \pm m$ ); n=6-9**

Умови дослідження	КРАТНІСТЬ КОНТАКТУ САЛЬМОНЕЛ З АЕРОКОКАМИ						
	1	2	3	4	5	6	7
Дослід 1	$1,5 \cdot 10^5 \pm 3,3 \cdot 10^4$	$7,4 \cdot 10^4 \pm 1,2 \cdot 10^4$	$5,6 \cdot 10^4 \pm 1,2 \cdot 10^4$	$4,9 \cdot 10^2 \pm 9,2 \cdot 10^1$	$8,5 \cdot 10^1 \pm 0,7 \cdot 10^1$	$3,8 \cdot 10^1 \pm 1,1 \cdot 10^1$	0,25 ±0,001
Контроль 1	$1,9 \cdot 10^9 \pm 4,0 \cdot 10^7$	$9,7 \cdot 10^8 \pm 1,7 \cdot 10^8$	$2,2 \cdot 10^9 \pm 3,7 \cdot 10^8$	$8,9 \cdot 10^8 \pm 5,6 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^9 \pm 5,4 \cdot 10^7$	$4,2 \cdot 10^9 \pm 3,5 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^9 \pm 1,2 \cdot 10^8$
Дослід 2	$1,9 \cdot 10^5 \pm 5,1 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^5 \pm 3,7 \cdot 10^4$	$1,7 \cdot 10^3 \pm 3,9 \cdot 10^2$	$4,8 \cdot 10^2 \pm 1,5 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^2 \pm 3,9 \cdot 10^1$	$1,5 \cdot 10^2 \pm 0,9 \cdot 10^1$	0,6 ±0,001
Контроль 2	$1,2 \cdot 10^9 \pm 1,0 \cdot 10^8$	$1,1 \cdot 10^9 \pm 7,0 \cdot 10^7$	$1,0 \cdot 10^9 \pm 7,2 \cdot 10^7$	$8,6 \cdot 10^8 \pm 3,4 \cdot 10^7$	$2,9 \cdot 10^9 \pm 1,4 \cdot 10^8$	$2,1 \cdot 10^9 \pm 1,3 \cdot 10^8$	$1,9 \cdot 10^9 \pm 1,8 \cdot 10^8$

Примітка: 1. дослід - культури сальмонел, що були в контакті з аерококами  
 2. контроль - культури сальмонел, що не були в контакті з аерококами  
 3. дослід 1, контроль 1 – штамп *Salmonella pullorum-gallinarum*

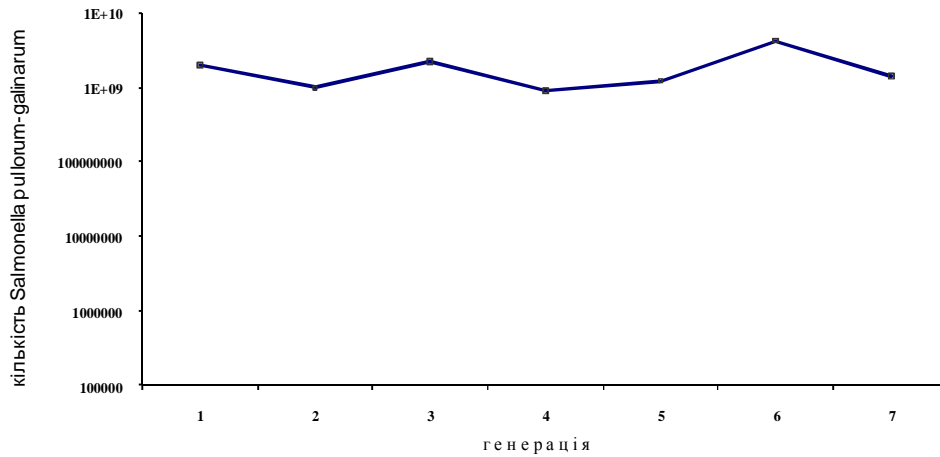
Як видно з даних таблиці 1, починаючи з 7-й генерації, залишалися життєздатними в перерахуванні на 1 мл МПБ одиничні клітини сальмонел обох досліджуваних штамів. При цьому відзначена виражена динаміка зниження кількості сальмонел (рис.1).



**Рис.1. Динаміка (логарифмічна шкала) зниження кількості штамів сальмонел при повторних контактах (послідовні генерації) із *A. viridans avium 21***

На малюнку видно, що різке зниження кількості сальмонел спостерігалось, починаючи з третьої генерації, що не можна пов'язати з дією перекису водню і, імовірно, пов'язано зі змінами біологічних властивостей сальмонел при повторних контактах з *A. viridans avium* 21.

Значимі зміни динаміки кількості сальмонел у МПБ вирощуваних у відсутності аерококів не встановлено (Рис.2)



**Рис.2. Динаміка (логарифмічна шкала) кількості сальмонел штаму не бувших у контакті із *A. viridans avium* 21.**

З огляду на те, що плазмокоагулазна проба є одним з основних ознак, що визначають хвороботворність, проведені дослідження штамів сальмонел в кожній із семи генерацій на здатність продукування плазмокоагулази. Виявлено, що з кожним наступним контактом *Salmonella pullorum-gallinarum* з *A. viridans avium* 21 відзначене наростання питомої ваги плазмокоагуло-негативних штамів.

Виразене збільшення питомої ваги штамів *Salmonella pullorum-gallinarum* не продукуючих плазмокоагулазу зі збільшенням числа контактів з *A. viridans avium* 21 вказує на зміну біологічних властивостей сальмонел.

**Висновки** *Aerococcus viridans avium* 21, продукуючий перекис водню, виявляє антагоністичну дію у відношенні сальмонел *in vitro* у рідкому живильному середовищі.

Встановлено виразене зниження кількості сальмонел, що вижили, у кожній наступній генерації при спільному вирощуванні з *A. viridans avium* 21, що зв'язано зі змінами біологічних властивостей стафілокока і підтверджено, зокрема, змінами його плазмокоагулюючих властивостей.

#### Література

1. Егоров Н.С. Микробы–антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. – М.: Высшая школа, 1965.– 211 с.

2. Резник С.Р., Смирнов В.В., Сытник С.И. Действие микробов антагонистов на кокковые бактерии кожи молочных желез кормящих женщин // Микробиол. журн – 1988. – Т. 50, № 4. – С. 82-88.
3. Современные представления о механизмах лечебно-профилактического действия пробиотиков из бактерий рода *Vacillus*/В.В.Смирнов,С.Р.Резник, В.А. Вьюницкая и др. // Мікробіологічний журнал – 1993.–Т.55, №4.– С. 92–112.
4. Смирнов В.В., Резник С.Р., Василевская И.А. Спорообразующие аэробные бактерии–продуценты биологически активных веществ. – К.:Наукова думка, 1982. – 280 с.
5. Смирнов В.В., Рева О.Н., Вьюницкая В.А. Создание и практическое применение математической модели антагонистического действия бацилл при конструировании пробиотиков // Микробиология. – 1995. – Т. 64, № 5. – С. 661–667.
6. Evans J.B. Genus *Aerococcus* Williams, Hirsch and Cowan 1953 //Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. - 1986. – Т.2. - P.1080.
7. Hillier S.L., Krohn M.A., Rabe L.K., Klebanoff S.J., Eschenbach D.A. The normal vaginal flora, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-producing Lactobacilli and bacterial vaginosis in pregnant women // Cln. Infect. Dis. – 1993. - № 16. - P. 273-281.
8. Kondro W. Canadian scientists urge government to develop antibiotic plan The Lancet Vol 360, October 19, 2002 –P.1230.
9. MacKova-Suchova M., Kostal J., Demnerova K. Effect of cultivation conditions on glycerophosphate oxidase production by a mutant strain of *Aerococcus viridans*. Microbiologia 1995 Sep; Vol. 11.- № 3.- P. 337-342.

### Summary

#### I. Biben

#### ANTAGONISM *AEROCOCCUS VIRIDANS AVIUM 21* AND *SALMONELLA PULLORUM-GALLINARUM* IN VITRO

*Are represented the study results of antagonistic action *Aerococcus viridans avium 21* produced hydrogen peroxide on *Salmonella pullorum-gallinarum*, in vitro.*

*Is established antagonistic action, becoming stronger in each consequent generation *Salmonella pullorum-gallinarum* attached to the joint growing with *A. viridans. avium 21* Supposes, that checked off dominance related to changes of biological properties *Salmonella*.*

**Key words:** *Aerococcus viridans avium 21, Salmonella pullorum-gallinarum, antagonistic, hydrogen peroxide, consequent contact, generation*

Рецензент – д.вет.н., професор Стибель В.В.