

Розділ 5

ЕПІЗООТОЛОГІЯ, МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ, МІКОЛОГІЯ, ІМУНОЛОГІЯ

УДК 636.52/58.087.8:612.1

ВЛИЯНИЕ *AEROCOCCUS VIRIDANS* ШТАММ BI-07 НА ФАГОЦИТАРНУЮ ФУНКЦИЮ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ БЕЛЫХ МЫШЕЙ

Бибен И.А., к.вет.н, доцент

Днепропетровский государственный агроэкономический университет, г. Днепропетровск,
[e-mail: bibenvet@ukr.net](mailto:ebibenvet@ukr.net)

Аннотация. Важнейшим условием жизнедеятельности организма является генетический гомеостаз внутренней среды, который контролируется с помощью цензорной функции иммунитета. Неспецифическая резистентность является универсальным механизмом генетического контроля несингенных факторов. Резидентная микрофлора с пробиотическими свойствами способна стимулировать иммунобиологические потенции макроорганизма и одним из таких микробионтов являются аэрококк. Изучили влияние изолированной нами культуры аэрококков на фагоцитарную функцию перитонеальных макрофагов и антителопродукцию на биомодели – белая мышь. В результате экспериментов установили достоверное повышение интенсивности фагоцитоза с завершённой деструкцией несингенного фактора и 4-5-ти кратное повышение титров индуцированных антител.

Ключевые слова: фагоцитоз, перитонеальные макрофаги, антителопродукция, белые мыши, иммунореактивность, стимуляция.

Актуальность проблемы. Нормальная микрофлора животных и человека способна существенно воздействовать на эффективность функционирования неспецифической резистентности макроорганизма и поэтому при глубоких нарушениях количественного и видового состава резидентной микробиоты наблюдается снижение иммунореактивности макроорганизма с исходом в инфекционный процесс вплоть до развития инфекционной патологии [3-5,7,10].

Благоприятный эффект резидентной микрофлоры проявляется в повышении устойчивости организма к воздействию потенциально опасных ксенобиотиков и микроорганизмов различной таксономической принадлежности, при этом наибольшей биологической ценностью обладают микроорганизмы с пробиотической активностью. Одним из очень полезных резидентных микробионтов для жизнедеятельности макроорганизма является *Aerococcus viridans* – обитатель кишечника, респираторного тракта, мочеполовых путей и окружающей среды. Аэрококки постоянно высеваются из навоза и помета сельскохозяйственных животных и птиц. Высеваемость аэрококков со слизистых оболочек резко снижается при острых и хронических воспалительных процессах, что может служить индикатор благополучия покровных тканей и всего организма в целом [4, 6, 7-10].

Обладая широким спектром ферментативной активности, аэрококки проявляют антагонистические свойства по отношению ко многим патогенным микроорганизмам, что связано с продукцией перекиси водорода, которая образуется при окислении молочной кислоты, пировиноградной кислоты и глицерофосфата. Также аэрококки влияют на иммунореактивность макроорганизма: способствуют перестройке лимфоидного аппарата, вызывают стимуляцию как неспецифических, так и специфических механизмов иммуногенеза посредством активации фагоцитарной функции поли- и мононуклеаров, а также увеличивают интенсивность антителопродукции [1-3, 8-10].

Цель исследования. Изучить влияние культуры *Aerococcus viridans* штамм *BI-07* на фагоцитарную функцию перитонеальных макрофагов и антителопродукцию у белых мышей.

Материал и методы исследования. Бактериальную культуру *Aerococcus viridans* штамм *BI-07* выращивали на элективной питательной среде оригинального состава: в 1000 см³ дистиллированной воды растворяли 20 г сухого питательного агара и 15 г растворимого крахмала. Смесь доводили до кипения, затем добавляли 400 мг йодистого калия, 30 мг грамурина и 2 мг этония. Смесь кипятили 20 мин и разливали в стельные чашки Петри. Среда сохранялась в холодильнике 20-30 дней. Культура *Aerococcus viridans* штамм *BI-07* росла в виде несливающихся, безпигментных выпуклых колоний, диаметром до 1 мм. При обработке посевов раствором 10 % серной кислоты (2,5 см³ на одну чашку Петри) вокруг колоний аэрококков появлялся темно-фиолетовый ореол. Идентификацию культур аэрококков проводили по методу J.V. Evans [1986].

Влияние аэрококков на клетки мононуклеарной фагоцитирующей системы – перитонеальные макрофаги (ПМ) изучали по методике И.Я. Учитель [1978]. Объектом фагоцитоза служила лабораторная субкультура *Salmonella typhimurium*. О функциональной активности ПМ судили по их фагоцитарной активности (ФА) и фагоцитарному числу (ФЧ). Бактерицидные свойства макрофагов изучали с помощью теста с нитросиним тетразолием (НСТ-тест) по методике К.А. Войткевич [1977] и Б.С. Нагоева [1983].

Результаты исследования. Экспериментальную работу по исследованию интенсивности фагоцитарной функции перитонеальных макрофагов на биомодели белые мыши под влиянием *Aerococcus viridans* штамм *BI-07* провели в НИЦ биобезопасности и экологического контроля ресурсов АПК Днепропетровского ГАЭУ.

Для изучения степени влияния аэрококков на эффективность фагоцитоза у белых мышей, подобрали опытную и контрольную группы беспородных нелинейных белых мышей по 60 голов в каждой, живой массой 18-20 г и в течение 10 суток однократно ежедневно внутрь через зонд задавали взвесь аэрококков в количестве 1×10⁹ ж.м.к. Объектом исследования служила фагоцитарная функция клеток мононуклеарной системы – перитонеальные макрофаги. В качестве контроля использовали перитонеальные макрофаги, полученные от мышей, которым в качестве плацебо идентично вводили физраствор. О функциональной активности перитонеальных макрофагов судили по двум показателям: фагоцитарной активности и фагоцитарному числу. Полученные экспериментальные данные приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Влияние *Aerococcus viridans* штамм *BI-07* на функциональную активность ПМ у белых мышей (M±m; n=60)

Группы белых мышей	Функциональная активность ПМ	
	ФА (%)	ФЧ (абс.)
Опытная	93,4±0,4	23,6±1,3
Контрольная	51,2±1,6	12,1±0,3
Уровень значимости различий (P)	≤0,001	≤0,001

Как следует из данных таблицы 1, показатели фагоцитарной активности у мышей, получавших культуру аэрококков, по сравнению с контролем достоверно выше (P≤0,001).

Из литературных источников и собственных исследований установлено, что высокая функциональная активность фагоцитов и интенсивность фагоцитарной функции не всегда коррелируют с полной ферментативной дезинтеграцией возбудителей, завершенным фагоцитозом и освобождением организма от несигенного патогенна. Для изучения степени завершенности фагоцитарной реакции нейтрофильных лейкоцитов использовали тест восстановления нитросинего тетразолия, который характеризуется двумя показателями:

1. количеством НСТ-положительных макрофагов, выраженных в %;
2. цитохимическим показателем активности (ЦПА).

Подобрали опытную и контрольную группы беспородных нелинейных белых мышей-аналогов по 60 голов в каждой, живой массой 18-20 г. Опытным мышам в течение 10 суток однократно ежедневно внутрь через зонд задавали взвесь аэрококков в количестве 1×10⁹ ж.м.к. Контакт перитонеальных макрофагов с сальмонеллами осуществляли интраперитонеально. Фагоцитарную активность ПМ оценивали по трем показателям: ФА, ФЧ и НСТ-тесту. Опытные показатели приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Воздействие *Aerococcus viridans* штамм BI-07 на фагоцитарную реакцию ПМ у белых мышей (M±m; n=60)

Группы белых мышей	Показатели фагоцитоза		НСТ-тест	
	ФА (%)	ФЧ (абс.)	% НСТ-положительных макрофагов	ЦПА
Опытная	81,6±12,3	39,4±3,1	72,6±1,9	2,1±0,1
Контрольная	34,4±6,9	9,1±1,3	31,3±1,8	0,81±0,07
Уровень значимости различий (P)	≤0,01	≤0,001	≤0,001	≤0,001

Как видно из данных таблицы 2 в опытной группе белых мышей, стимулированных культурой аэрококков, все показатели фагоцитарной активности ПМ достоверно выше, чем в контрольной группе (P≤0,01; P≤0,001).

При этом необходимо отметить, что возросли не только активность и интенсивность фагоцитоза перитонеальных макрофагов, но существенно увеличилась их бактерицидная активность, о чем свидетельствуют показатели НСТ-теста, а именно:

- процент НСТ-положительных клеток в группе опытных белых мышей составил 72,6±1,9, а в контроле – 31,3±1,8, при уровне значимости различий P≤0,001;

- ЦПА в опытной группе – 2,1±0,1, а в контроле – 0,81±0,07, при уровне значимости различий P≤0,001.

Также, протективное действие культуры *Aerococcus viridans* штамм BI-07 в отношении возбудителей инфекционной патологии изучили по критерию влияния аэрококков на иммуногенез при постановке реакции непрямой гемагглютинации.

Для эксперимента подобрали опытную и контрольную группы беспородных нелинейных белых мышей-аналогов по 60 голов в каждой, живой массой 18-20 г. Всем белым мышам, опытными и контрольными (n=120), per os через зонд ввели взвесь на изотоническом растворе инактивированной прогреванием культуру сальмонелл в объеме 2,5×10⁹ м.к., что количественно соответствует одной LD₅₀ витальной культуры. Опытным мышам в течение 14 суток после введения сальмонелл однократно ежедневно внутрь через зонд задавали взвесь аэрококков в количестве 1×10⁹ ж.м.к., контрольным аналогично вводили физраствор. В результате в опытной группе среднегеометрический титр (M_g) составил 1:192 против 1:48 в контрольной при уровне значимости различий P≤0,05. Полученные данные однозначно свидетельствуют о более интенсивном антителопозе в опытной группе по сравнению с контролем.

Резюмируя вышеизложенное можно утверждать, что под влиянием культуры *Aerococcus viridans* штамм BI-07 у белых мышей опытной группы произошла перестройка иммунореактивной функции макроорганизма в направлении стимуляции фагоцитоза и функциональной активности перитонеальных макрофагов, что несомненно повышает неспецифическую резистентность макроорганизма против инфекционной патологии, а также усилилась антителопродукция, что особенно важно при вакцинации.

Выводы

1. Установлено, что культура *Aerococcus viridans* штамм BI-07 обладает биологической активностью в отношении иммунной системы макроорганизма на биомодели – белая мышь. Аэрококки оказывают выраженное стимулирующее воздействие на фагоцитарную функцию перитонеальных макрофагов и значительно усиливают синтез протективных антител, титр повышается в 4-5 раз.

2. После применения культура *Aerococcus viridans* штамм BI-07 фагоцитарная активность перитонеальных макрофагов возросла в 1,7-2 раза; – интенсивность фагоцитоза количественно увеличивалась до 7 раз; – бактерицидная активность при деструкции несингенных факторов повысилась в 2 раза при уровне достоверности различий не ниже P≤0,05.

Литература

1. Войткевич, К.А. Определение общей окислительно-восстановительной активности нейтрофилов с помощью гистохимического красителя нитросинего тетразолия [Текст] / К.А. Войткевич // Лаб. дело. – 1977. - № 3. – С. 147-148.
2. Нагоев, Б.С. Модификация цитохимического метода восстановления нитросинего тетразолия [Текст] / Б.С. Нагоев // Лаб. дело. – 1983. - № 8. – С. 7-11.

3. Учитель, И.Я. Макрофаги в иммунитете [Текст] / И.Я. Учитель // М.: Медицина, 1978. – 200 с.
4. Хавкин, А.И. Микробиоз кишечника и иммунитет [Текст] / А.И. Хавкин // Рус. мед. журн. – 2003. – Т. 11, № 3. – С. 122-125.
5. Черняев, С.А. Гетерогенность бактерий рода *Aerococcus* и их роль в разработке новых пробиотиков и контроле их аутентичности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 25.10.02. – Харьков, 2002. – 22 с.
6. Evans, J.B. Genus *Aerococcus* Willians, Hirsch and Cowan 1953 // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. – 1986. - № 2. – 1080 p.
7. Khan, M. Growth-promoting effects of single-dose intragastrically administered probiotics in chickens [Text] / M. Khan, D. Raoult, H. Richeta // *British Poultry Science*. – 2007. - № 48 (6). – P. 732-735.
8. Pelucchi, C. Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis [Text] / C. Pelucchi, L. Chatenoud, F. Turati e. a. // *Epidemiology*. – 2012. - № 23 (3). – P. 410-414.
9. Sazawal, S. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials [Text] / S. Sazawal, G. Hiremath, U. Dhingra e.a. // *Lancet Infect. Dis*. – 2006. - № 6. – P. 374-382.
10. West, N.P. Probiotics, immunity and exercise: a review [Text] / N.P. West, D.B. Pyne, J.M. Peake e.a. // *Exers. Immunol. Rev*. – 2009. - № 15 (107). – P. 107-126.

ВПЛИВ *AEROCOCCUS VIRIDANS* ШТАМ *BI-07* НА ФАГОЦИТАРНУ ФУНКЦІЮ ПЕРИТОНЕАЛЬНИХ МАКРОФАГІВ БІЛИХ МИШЕЙ

Бібен І.А., канд. вет.наук, доцент

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпропетровськ, [e-mail: bibenvet@ukr.net](mailto:bibenvet@ukr.net)

Анотація. Найважливішою умовою життєдіяльності організму є генетичний гомеостаз внутрішнього середовища, що контролюється за допомогою цензорної функції імунітету. Неспецифічна резистентність є універсальним механізмом генетичного контролю несингенних факторів. Резидентна мікрофлора з пробіотичними властивостями здатна стимулювати імунобіологічні потенції макроорганізму і одним з таких мікробіонтів є аерокок. Вивчили вплив ізольованої нами культури аерококів на фагоцитарну функцію перитонеальних макрофагів і антитілопродукцію на біомоделі – білі миші. На підставі експериментів встановили достовірне підвищення інтенсивності фагоцитозу з завершеною деструкцією несингенного фактору та 4-5-ти кратне підвищення титру індукованих антитіл.

Ключові слова: фагоцитоз, перитонеальні макрофаги, антитілопродукція, білі миші, імунореактивність, стимуляція.

INFLUENCE *AEROCOCCUS VIRIDANS* STRAIN *BI-07* ON THE PHAGOCYtic FUNCTION OF PERITONEAL MACROPHAGES WHITE MICE

BIBEN I.A., PhD. vet. Sciences, Associate Professor

Dnepropetrovsk State University of Agrarian-economic, Dnepropetrovsk, e-mail: bibenvet@ukr.net

Summary. The most important condition is the life of the organism genetic homeostasis of the internal environment, which is controlled by the sensory immune function. Nonspecific resistance is a universal mechanism of genetic control alien factors. The resident microflora with probiotic properties capable of stimulating immune biological potency of host and one of these are mikrobionter aerococccuses. We studied the effect of an isolated culture aerococccuses on the phagocytic function of peritoneal macrophages and immunoglobulin synthesis on biomodel - white mouse. The experiments have established a significant increase in the intensity of phagocytosis with the complete destruction of alien factor and 4-5 time fold increase in titers induced antibodies.

Key words: phagocytosis, peritoneal macrophages, immunoglobulin synthesis, white mice, immunoreactivity stimulation.