



УДК 619:576.8:619:616.99:636.4

Показники антилізоцимної та антикомплементарної активності мікроорганізмів дистального відділу кишечника поросят за змішаної нематодозно-протозоозної інвазії

Р.А. Пелень
andriyovich30@rambler.ru

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79050, Україна

У статті наведені результати дослідження впливу кишкових паразитів на показники антилізоцимної та антикомплементарної активності мікроорганізмів дистального відділу кишечника. Встановлено, що продукти життєдіяльності кишкових паразитів поросят знижують антилізоцимну активність таких облигатних анаеробів, як *Bifidobacterium spp.* на 42,1% ($p < 0,01$), *Prevotella spp.* – на 14,3%, *Clostridium spp.* – на 66,7% ($p < 0,001$). З МАФАНМ на 38,5% ($p < 0,05$) знижують у *Lactobacillus spp.* і на 50,0% ($p < 0,01$) – у *Streptococcus spp.* Вищою, порівняно із контролем, антилізоцимна активність була у *Bacteroides spp.* ($p < 0,05$), *Eubacterium spp.* ($p < 0,001$), *Propionibacterium spp.* ($p < 0,01$), *Peptostreptococcus spp.* ($p < 0,05$), *Fusobacterium spp.* ($p < 0,01$), *E. coli* лакт. «+» гем «-» ($p < 0,05$), *Klebsiella spp.* ($p < 0,001$), *Citrobacter spp.* ($p < 0,01$), *Enterococcus spp.* ($p < 0,05$), *Staphylococcus spp.* ($p < 0,001$), *Candida spp.* ($p < 0,001$), виділених із дистального відділу кишечника поросят, уражених змішаною нематодозно-протозоозною інвазією.

За дії продуктів життєдіяльності аскарисів, еймерій та балантидій антикомплементарна активність вірогідно зростала у *Prevotella spp.* ($p < 0,01$), *Clostridium spp.* ($p < 0,001$), *Eubacterium spp.* ($p < 0,001$), *Propionibacterium spp.* ($p < 0,001$), *Peptostreptococcus spp.* ($p < 0,001$), *Fusobacterium spp.* ($p < 0,001$), *Lactobacillus spp.* ($p < 0,05$), *E. coli* лакт. «+» гем «-» ($p < 0,01$), *E. coli* лакт. «-» гем «+» ($p < 0,001$), *Klebsiella spp.* ($p < 0,05$), *Enterobacter spp.* ($p < 0,001$), *Enterococcus spp.* ($p < 0,001$), *Streptococcus spp.* ($p < 0,001$) і лише у *Bacteroides spp.* вона була вірогідно нижчою ($p < 0,001$), порівняно з контролем.

Ключові слова: поросята, кишечник, змішана інвазія, антилізоцимна активність, антикомплементарна активність, анаеробна мікрофлора, аеробна мікрофлора, умовно-патогенна мікрофлора.

Показатели антилизоцимной и антикомплементарной активности микроорганизмов дистального отдела кишечника поросят при смешаной нематодозно-протозоозной инвазии

Р.А. Пелень
andriyovich30@rambler.ru

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79050, Украина

В статье приведены результаты исследования влияния кишечных паразитов на показатели антилизоцимной и антикомплементарной активности микроорганизмов дистального отдела кишечника. Установлено, что продукты жизнедеятельности кишечных паразитов поросят снижают антилизоцимную активность следующих облигатных анаэробов: *Bifidobacterium spp.* – на 42,1% ($p < 0,01$), *Prevotella spp.* – на 14,3%, *Clostridium spp.* – на 66,7% ($p < 0,001$). С МАФАНМ на 38,5% ($p < 0,05$) снижают у *Lactobacillus spp.* и на 50,0% ($p < 0,01$) – в *Streptococcus spp.* Сравнительно с контролем, антилизоцимная активность была выше у *Bacteroides spp.* ($p < 0,05$), *Eubacterium spp.* ($p < 0,001$), *Propionibacterium spp.*

Citation:

Peleno, R.A. (2016). The indicators of anti lysozyme and anti complementary activity of microorganism of pigs intestine distal department for mixed – protozoic invasion. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 18, 3(71), 248–251.

($p < 0,01$), *Peptostreptococcus* spp. ($p < 0,05$), *Fusobacterium* spp. ($p < 0,01$), *E. coli* лакто. «+» гем «-» ($p < 0,05$), *Klebsiella* spp. ($p < 0,001$), *Citrobacter* spp. ($p < 0,01$), *Enterococcus* spp. ($p < 0,05$), *Staphylococcus* spp. ($p < 0,001$), *Candida* spp. ($p < 0,001$), виділених із дистального відділу кишечника поросят со смешанной нематодозно-протозоозной инвазией.

Под действием продуктов жизнедеятельности аскаридов, эймерий и балантидий антикомплемментарная активность достоверно возрастала в *Prevotella* spp. ($p < 0,01$), *Clostridium* spp. ($p < 0,001$), *Eubacterium* spp. ($p < 0,001$), *Propionibacterium* spp. ($p < 0,001$), *Peptostreptococcus* spp. ($p < 0,001$), *Fusobacterium* spp. ($p < 0,001$), *Lactobacillus* spp. ($p < 0,05$), *E. coli* лакто. «+» гем «-» ($p < 0,01$), *E. coli* лакто. «-» гем «+» ($p < 0,001$), *Klebsiella* spp. ($p < 0,05$), *Enterobacter* spp. ($p < 0,001$), *Enterococcus* spp. ($p < 0,001$), *Streptococcus* spp. ($p < 0,001$) и только в *Bacteroides* spp. она была достоверно ниже ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

Ключевые слова: поросята, кишечник, смешанная инвазия, антилизозимная активность, антикомплемментарная активность, анаэробная микрофлора, аэробная микрофлора, условно-патогенная микрофлора.

The indicators of anti lysozyme and anti complementary activity of microorganism of pigs intestine distal department for mixed – protozoic invasion

R.A. Peleno
andriyovich30@rambler.ru

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79050, Ukraine

The article deals with the results of search of the influence of intestinal parasites on the indicators of antilysozyme and anticomplementary activity of microorganism of distal department of intestine. It was established, that the products of intestinal parasites of pigs reduce anti lysozyme activity of such obligate anaerobes as *Bifidobacterium* spp. to 42.1% ($p < 0,01$), *Prevotella* spp. to 14.3%, *Clostridium* spp. to 66.7% ($p < 0,001$). With MAFAnM to 38.5% ($p < 0,05$) in *Lactobacillus* spp. and to 50.0% ($p < 0,01$) in *Streptococcus* spp. Higher compared with the control, antilysozyme activity was in *Bacteroides* spp. ($p < 0,05$), *Eubacterium* spp. ($p < 0,001$), *Propionibacterium* spp. ($p < 0,01$), *Peptostreptococcus* spp. ($p < 0,05$), *Fusobacterium* spp. ($p < 0,01$), *E. coli* lact. «+» гем «-» ($p < 0,05$), *Klebsiella* spp. ($p < 0,001$), *Citrobacter* spp. ($p < 0,01$), *Enterococcus* spp. ($p < 0,05$), *Staphylococcus* spp. ($p < 0,001$), *Candida* spp. ($p < 0,001$) abstracted from the distal intestine of pigs affected with mixed nematodosis - protozoic invasion. With the action of products of vital functions of ascarides, eymeria and balantides, the anticomplementary activity significantly increases in *Prevotella* spp. ($p < 0,01$), *Clostridium* spp. ($p < 0,001$), *Eubacterium* spp. ($p < 0,001$), *Propionibacterium* spp. ($p < 0,001$), *Peptostreptococcus* spp. ($p < 0,001$), *Fusobacterium* spp. ($p < 0,001$), *Lactobacillus* spp. ($p < 0,05$), *E. coli* lact. «+» гем «-» ($p < 0,01$), *E. coli* lact. «-» гем «+» ($p < 0,001$), *Klebsiella* spp. ($p < 0,05$), *Enterobacter* spp. ($p < 0,001$), *Enterococcus* spp. ($p < 0,001$), *Streptococcus* spp. ($p < 0,001$) and only in *Bacteroides* spp. it was significantly lower ($p < 0,001$), compared with the control.

Key words: pigs, intestines, mixed invasion, antilysozyme activity, anticomplementary activity, anaerobic microflora, aerobic microflora, pathogenic microflora.

Вступ

Дія екологічних і сезонних чинників, неповноцінна годівля, застосування антибактеріальних препаратів, незрілість імунної системи у молодих тварин, а також кишкові паразити є основними причинами мікробіологічних порушень у кишечнику і формування осередків хронічної інфекції, зумовленої умовно-патогенними мікроорганізмами (УПМ) (Bondarenko, 2000; Masljanko and Bozhyk, L.Ja. (2011). Діагностика таких інфекцій є утрудненою. Це пов'язано з відсутністю специфічної клінічної картини, поліетіологічністю захворювань, висіванням з патологічного матеріалу асоціацій із представників нормальної мікрофлори ураженої частини кишечника і транзиторних мікроорганізмів. Крім цього, вчені звертають увагу й на таку здатність мікроорганізмів, як секреція ними антидефенсинів, що інактивують захисні механізми хазяїна – лізоцим та комплемент (Brudastov et al., 1996). Саме тому здатність бактерій специфічно інактивувати лізоцим макроорганізму було визначено як антилізоцимну активність (АЛА), а деградувати комплемент – як антикомплементарну активність (АКА).

Роль АЛА полягає в персистенції мікроорганізмів у організмі господаря лізоциму як чинника імунітету, який входить до низки провідних бактерицидних ферментних систем клітин фагоцитарного ряду та інших клітин і тканин організму (Buharin et al., 1984; Buharin, 1994).

Антикомплементарна активність є складовою персистентного потенціалу, яким володіють стафілококи, стрептококи, нейсерії, псевдомонади та інші мікроорганізми (Brudastov, 1992). Патогени, що володіють АКА, здатні утворювати більш стійкі біоценози, ніж ті, що не мають цієї здатності (Menkus, 2012).

Досі не вивченими залишаються питання впливу кишкових паразитів на секреторні фактори персистенції мікроорганізмів кишечника поросят, що робить такі дослідження актуальними.

Метою роботи було вивчити АЛА й АКА мікроорганізмів дистального відділу кишечника за змішаної протозоозно-нематодозної інвазії поросят.

Матеріал і методи досліджень

В експериментах *in vitro* використовували мікроорганізми, виділені з мікробоценозу дистального відді-

лу кишечника інтактних поросят (контрольна група) та поросят, уражених асоціацією «аскарици+еймерії+балактидії» (дослідна група). При формуванні дослідної групи враховували інтенсивність інвазії (II) гельмінтами і найпростішими, яку визначали методом McMaster (Vasil'eva, 1995). Так, кількість ооцист балактидій в 1 г калу становила $752,9 \pm 64,7$, еймерій – $639,1 \pm 49,4$, яєць аскарисів – $626,3 \pm 26,1$ екземплярів.

Відбір матеріалу для дослідження проводили індивідуально із прямої кишки в стерильні пеніцилінові флакони. Час від моменту забору проб до моменту досліджень не перевищував 2-х годин. Для проведення бактеріологічних досліджень наважку вмісту м'ясою 1 г ретельно розтирали в стерильній ступці з 9 мл стерильного буферного розчину. З основного розведення виготовляли наступні, починаючи з 10^2 та до 10^{12} . Висів суспензії в кількості 0,05-0,1-1,0 мл робили на Schaedler-агар, ентерокок-агар, жовтково-сольовий агар, кров'яний агар, вісмут-сульфіт-агар, середовища Ендо і Плоскірева, агар Сабуро.

Антилізоцимну активність (АЛА) визначали за мікробіологічним методом, розробленим О. В. Бухариним та співавторами (Buharin, et al., 1984). АКА визначали методом кінетичного титрування комплементу з вимірюванням (як міри активності комплементу) максимальної швидкості лізису сенсibiliзованих еритроцитів барана (Brudastov, 1992).

Одержані результати піддавали статистичній обробці, яку проводили методом варіаційної статистики з визначенням середніх значень величин і середньої похибки. Вірогідність відмінностей між середніми значеннями під час проведення аналізу оцінювали, використовуючи критерій Стьюдента (t). Відмінність між величинами вважали вірогідною, коли ймовірність різниці становила $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення

Встановлено, що продукти життєдіяльності кишкових паразитів поросят впливають на такі чинники персистенції мікроорганізмів всередині макроорганізму, як антилізоцимна та антикомплементарна активність. Дослідження антилізоцимної активності облигатних анаеробів, виділених з дистального відділу кишечника інвазованих поросят, показало (табл. 1), що вона знижується, порівняно з контролем, на 42,1% у *Bifidobacterium* spp. ($p < 0,01$), на 14,3% – у *Prevotella* spp. і на 66,7% – у *Clostridium* spp. ($p < 0,001$).

Таблиця 1

Показники антилізоцимної та антикомплементарної активності облигатних анаеробів, виділених з дистального відділу кишечника поросят, уражених змішано-нематодозно-протозоозною інвазією, $M \pm m, n = 8$

Мікроорганізми	Антилізоцимна активність, мкг/мл OD		Антикомплементарна активність, антиCH ₅₀	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
<i>Bifidobacterium</i> spp.	1,9 ± 0,18	1,1 ± 0,10**	0,3 ± 0,04	0,1 ± 0,02**
<i>Bacteroides</i> spp.	1,2 ± 0,10	1,7 ± 0,14*	3,8 ± 0,32	6,1 ± 0,56**
<i>Prevotella</i> spp.	1,4 ± 0,12	1,2 ± 0,10	0,2 ± 0,01	0,6 ± 0,03***
<i>Clostridium</i> spp.	0,3 ± 0,02	0,1 ± 0,01***	0,1 ± 0,01	0,2 ± 0,01***
<i>Eubacterium</i> spp.	0,6 ± 0,07	1,6 ± 0,13***	1,2 ± 0,03	4,3 ± 0,36***
<i>Propionibacterium</i> spp.	0,2 ± 0,01	0,4 ± 0,05**	2,4 ± 0,16	7,2 ± 0,66***
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,02*	0,3 ± 0,03	0,9 ± 0,04***
<i>Fusobacterium</i> spp.	0,3 ± 0,02	1,1 ± 0,10**	1,1 ± 0,08	3,9 ± 0,34***

Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$

У всіх інших облигатних анаеробів, які були досліджені, цей показник був вищим, порівняно із контролем, в 1,42 раза у *Bacteroides* spp. ($p < 0,05$), 2,67 раза – у *Eubacterium* spp. ($p < 0,001$), 2,0 раза – у *Propionibacterium* spp. ($p < 0,01$), 1,25 раза – у *Peptostreptococcus* spp. ($p < 0,05$) і в 3,67 раза – у *Fusobacterium* spp. ($p < 0,01$).

Вивчення антикомплементарної активності показало, що вона властива всім облигатним анаеробним мікроорганізмам, які були ізолювані з дистального відділу кишечника поросят. Встановлено, що продукти життєдіяльності кишкових паразитів зумовили вірогідне зростання антикомплементарної активності у *Prevotella* spp. ($p < 0,01$), *Clostridium* spp. ($p < 0,001$), *Eubacterium* spp. ($p < 0,001$), *Propionibacterium* spp. ($p < 0,001$), *Peptostreptococcus* spp. ($p < 0,001$), *Fusobacterium* spp. ($p < 0,001$) і лише у *Bacteroides* spp. вказаний показник був вірогідно нижчим ($p < 0,001$) порівняно з контролем.

Персистентні властивості були виявлені нами й серед мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ), ізолюваних із дистального відділу кишечника поросят (табл. 2).

За дії продуктів життєдіяльності кишкових паразитів вірогідно зростала антилізоцимна активність *E. coli* лакт. «+» гем «-» ($p < 0,05$), *Klebsiella* spp. ($p < 0,001$), *Citrobacter* spp. ($p < 0,01$), *Enterococcus* spp. ($p < 0,05$), *Staphylococcus* spp. ($p < 0,001$), *Candida* spp. ($p < 0,001$). Проте у таких мікроорганізмів, як *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp. антилізоцимна активність знизилася, порівняно з контролем, відповідно на 38,5% ($p < 0,05$) та 50,0% ($p < 0,01$).

Для усіх МАФАНМ, виділених із дистального відділу кишечника поросят, уражених змішаною нематодозно-протозоозною інвазією, характерним було зростання антикомплементарної активності, проте вірогідно вищою, порівняно з контролем, різниця була у *Lactobacillus* spp. ($p < 0,05$), *E. coli* лакт. «+» гем «-» ($p < 0,01$), *E. coli* лакт. «-» гем «+» ($p < 0,001$), *Klebsiella* spp. ($p < 0,05$), *Enterobacter* spp. ($p < 0,001$), *Enterococcus* spp. ($p < 0,001$) і *Streptococcus* spp. ($p < 0,001$).

Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj, 2016, vol. 18, no 3 (71)

Показники антилізоцимної та антикомплементавної активності МАФАНМ виділених із дистального відділу кишечника поросят, уражених змішаною нематодозно-протозоозною інвазією, $M \pm m$, $n=8$

Мікроорганізми	Антилізоцимна активність, мкг/мл		Антикомплементавна активність, анти CH_{50}	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
<i>Lactobacillus</i> spp.	2,6 ± 0,32	1,6 ± 0,20*	1,3 ± 0,12	1,9 ± 0,20*
<i>E. coli</i> лакт. «+» гем «-»	1,2 ± 0,12	1,8 ± 0,20*	2,8 ± 0,14	3,9 ± 0,28**
<i>E. coli</i> лакт. «-» гем «+»	1,5 ± 0,18	1,6 ± 0,12	2,0 ± 0,16	8,6 ± 0,68***
<i>Klebsiella</i> spp.	0,4 ± 0,05	2,4 ± 0,28***	3,4 ± 0,34	4,8 ± 0,38*
<i>Enterobacter</i> spp.	1,9 ± 0,16	2,2 ± 0,26	0,9 ± 0,05	5,7 ± 0,52***
<i>Citrobacter</i> spp.	0,8 ± 0,06	1,6 ± 0,20**	0,6 ± 0,03	0,7 ± 0,06
<i>Enterococcus</i> spp.	0,8 ± 0,06	1,2 ± 0,12*	0,5 ± 0,06	1,3 ± 0,04***
<i>Streptococcus</i> spp.	0,6 ± 0,06	0,3 ± 0,02**	0,2 ± 0,02	1,5 ± 0,10***
<i>Staphylococcus</i> spp.	0,1 ± 0,02	0,9 ± 0,04***	2,1 ± 0,16	2,6 ± 0,18
<i>Candida</i> spp.	0,6 ± 0,07	1,4 ± 0,10***	1,5 ± 0,14	1,8 ± 0,16

Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$

Висновки

1. Продукти життєдіяльності кишкових паразитів поросят, знижують антилізоцимну активність таких облигатних анаеробів, як *Bifidobacterium* spp. на 42,1% ($p < 0,01$), *Prevotella* spp. – на 14,3%, *Clostridium* spp. – на 66,7% ($p < 0,001$). З МАФАНМ на 38,5% ($p < 0,05$) у *Lactobacillus* spp. і на 50,0% ($p < 0,01$) – у *Streptococcus* spp. та сприяють її зростанню, порівняно із контролем, у *Bacteroides* spp. ($p < 0,05$), *Eubacterium* spp. ($p < 0,001$), *Propionibacterium* spp. ($p < 0,01$), *Peptostreptococcus* spp. ($p < 0,05$), *Fusobacterium* spp. ($p < 0,01$), *E. coli* лакт. «+» гем «-» ($p < 0,05$), *Klebsiella* spp. ($p < 0,001$), *Citrobacter* spp. ($p < 0,01$), *Enterococcus* spp. ($p < 0,05$), *Staphylococcus* spp. ($p < 0,001$), *Candida* spp. ($p < 0,001$).

2. За впливу дії кишкових паразитів та продуктів їх життєдіяльності антикомплементавна активність вірогідно зростала у *Prevotella* spp. ($p < 0,01$), *Clostridium* spp. ($p < 0,001$), *Eubacterium* spp. ($p < 0,001$), *Propionibacterium* spp. ($p < 0,001$), *Peptostreptococcus* spp. ($p < 0,001$), *Fusobacterium* spp. ($p < 0,001$), *Lactobacillus* spp. ($p < 0,05$), *E. coli* лакт. «+» гем «-» ($p < 0,01$), *E. coli* лакт. «-» гем «+» ($p < 0,001$), *Klebsiella* spp. ($p < 0,05$), *Enterobacter* spp. ($p < 0,001$), *Enterococcus* spp. ($p < 0,001$), *Streptococcus* spp. ($p < 0,001$) і лише у *Bacteroides* spp. вона була вірогідно нижчою ($p < 0,001$) порівняно з контролем.

Бібліографічні посилання

Bondarenko, V.M. (2000). Obshhij analiz predstavlenij o patogennyh i uslovno-patogennyh bakterijah. Zhurnal

mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii. 4, 20–26 (in Russian).
 Brudastov, Ju.A., Valyshev, A.V., Brudastov, A.N. (1996). Antikomplementarnaja aktivnost' proizvodstvennogo shtamma *Bacillus cereus* IP 5832 i jenterobakterij pri ih sovместnom kultivirovanii. Zhurn. mikrobiol. 3, 91–93 (in Russian).
 Buharin, O.O. (1994). Biomedicinskie aspekty persistencii bakterij. Zhurn. mikrobiol. 4, 4–13 (in Russian).
 Buharin, O.V., Nemceva, N.V., Anan'ina, G.E., Sidorov, V.V. (1984). Antilizocimnaja aktivnost' vnutrikletochno parazitirujushhij bakterijrin. Faktory estestvennogo immuniteta pri razlichnyh fiziologicheskijh i patologicheskijh sostojanijah. Tezisy dokladov k VIII zonal'noj nauchnoj konferencii. Cheljabinsk. 9, 180 (in Russian).
 Brudastov, Ju.A. (1992). Antikomplementarnaja aktivnost' bakterij. Avtoref. dis. kand. med. nauk. Cheljabinsk (in Russian).
 Vasil'eva, Z.G. (1995). Metody gel'mintologicheskijh issledovanij. M.: Medgiz (in Russian).
 Masljanko, R.P., Bozhyk, L.Ja. (2011). Rol' umovno-patogennoi' mikroflory v infekcijnij patologijh' kyshechnyka. Naukovyj visnyk LNUVMBT imeni S.Z. G'zhyc'kogo. 13, 2(48), 185–191 (in Ukrainian).
 Menkus, O.V. (2012). Vyvchennja antykomplementarnoi' aktyvnosti mikroorganizmiv u hvoryh z zahvorjuvannjamy dyhal'nyh shljahiv. Visnyk problem biologijh' i medycyny. 2, 1(92), 116–119 (in Ukrainian).

Стаття надійшла до редакції 15.10.2016