

## МІКРОБІОЛОГІЯ, ЕПІЗООТОЛОГІЯ, ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ ТА ІМУНОЛОГІЯ

УДК 636.52/58.087.8:612.1

БИБЕН І.А., канд. вет. наук

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет

bibenvet@ukr.net

### БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ИММУНОРЕГУЛЯТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ *BAC. SUBTILIS* ШТАММ ВІ-12

На основании экспериментальных данных установлено, что пробиотическая культура *Bac. subtilis* штамм ВІ-12 обладает типичными для вида морфо-тинкториальными и культуральными свойствами, проявляет высокую антагонистическую активность к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов с незначительной устойчивостью к антибиотикам и выраженной биохимической активностью. Доказано, что микробная масса оказывает позитивное влияние на иммунобиологическую реактивность макроорганизма, стимулирует неспецифическую резистентность, повышает поглотительную способность фагоцитов, увеличивает уровень ЛАСК и БАСК.

**Ключевые слова:** пробиотическая культура *Bac. subtilis*, фагоцитарный индекс, фагоцитарная активность, бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови.

**Постановка проблемы.** Микробиоценоз макроорганизма представляет эволюционно сформировавшуюся сложно организованную взаимокоррелированную динамичную систему микробионтов, различной таксономической принадлежности, способную к персистенции и саморегуляции под воздействием изменяющихся факторов среды обитания. Системные адаптационно-компенсаторные биомеханизмы обеспечивают пространственно-временное превалирование в микробиоценозах резидентной микрофлоры. При превышении порогового уровня патофизиологического воздействия транзиторная микрофлора колонизирует внутреннюю среду макроорганизма, конкурируя с нормофлорой и как следствие декомпенсированного сдвига в микробном пейзаже возникает инфекционная патология [2, 5, 6, 9, 13, 15].

Идея коррекционного воздействия на внутреннюю среду макроорганизма путем целенаправленного изменения состава симбионтной микрофлоры принадлежит основоположнику отечественной микробиологии и иммунологии И.И. Мечникову, в результате в биотехнологии возникло медико-биологическое прикладное направление по изучению пробиотических микроорганизмов – живых бактерий, антагонистически активных против патогенных и условно-патогенных возбудителей [8, 9, 11–13, 14, 16, 17].

**Анализ последних исследований и публикаций.** Применение пробиотиков является примером физиологической заместительной терапии. В отличие от антибиотиков и химиопрепаратов пробиотики не оказывают негативного влияния на нормофлору, а при дисбиотических изменениях способствуют ее видовой и количественной репарации. Разнообразие микрoэкологических нарушений нормальной микрофлоры, обуславливающих дисбактериоз, требует для их коррекции адекватных прописей пробиотических препаратов [1, 4, 5, 6, 9, 12, 14, 17].

При создании новых пробиотических препаратов наряду с изучением базисных биологических свойств резидентных микробионтов, важное технологическое значение имеет их влияние на неспецифическую иммунобиологическую резистентность макроорганизма, поскольку при возникновении и дальнейшем развитии инфекционной патологии происходит снижение защитно-компенсаторных функций организма, как экологической среды обитания инфектопатогена [1, 3, 7, 8, 11–13].

Антигеннеспецифическая резистентность макроорганизма реализуется посредством эффекторных иммунобиологических механизмов, к которым относятся моноцитарно-макрофагальные клетки, дендритные клетки мезенхимального происхождения, гуморальные факторы сыворотки крови – система комплемента, пропердина, интерферонов, лизоцима и другие медиаторы и регуляторы цензорной функции иммунной системы [1–4, 6, 9, 11–13, 15, 17].

Важной ролью пробиотиков является их способность повышать антигенспецифическую и антигеннеспецифическую резистентность организма. Сенные бациллы обладают выраженным им-

муномодулюючим воздействием посредством индукции синтеза эндогенного интерферона, стимуляции фагоцитарной активности клеток РЭС, повышения антителопродукции и функциональной активности иммунокомпетентных клеток лимфоидно-макрофагальных тканей иммунной системы [8, 12, 13, 15, 17].

**Цель работы** – изучение биологических свойств и иммуностимулирующего влияния на макроорганизм пробиотической культуры *Bac. subtilis* штамм ВІ-12.

**Материал и методы исследований.** Нами из кишечника кур 100-дневного возраста выделена пробиотическая культура *Bac. Subtilis*, которая получила лабораторный номер ВІ-12. Изучение морфо-тинкториальных, культуральных, биохимических свойств, антагонистической активности и антибиотикоустойчивости проводили согласно общепринятых (рутинных) методик, изложенных в официальных руководствах и используемых в баклабораториях ветеринарной медицины [10].

Фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарную активность (ФА) нейтрофилов определяли по Воронину Е.С. и др. [2002] с *S. aureus* 209. Для получения антигена, культуру инкубировали сутки на МПА при 37-38 °С и по оптическому стандарту мутности приготовили суспензию в 0,9 % растворе NaCl с концентрацией  $2 \times 10^9$  м.к./см<sup>3</sup>, инактивировали на водяной бане при 70 °С в течение 30 мин.

Для постановки опсоно-фагоцитарной реакции в пробирки вносили 0,5 см<sup>3</sup> 2 % раствора лимоннокислого натрия и 1,0 см<sup>3</sup> крови, перемешивали и добавляли 0,5 см<sup>3</sup> суспензии тест-культуры. Смесь выдерживали 5-6 мин при 37-38 °С, готовили препараты-мазки, высушивали на воздухе, фиксировали 5 мин в метаноле и окрашивали по Романовскому-Гимза.

Подсчет фагоцитированных бактерий проводили в 100 нейтрофилах. На основании подсчета определяли фагоцитарный индекс (ФИ) – среднее число захваченных одним нейтрофилом стафилококков и фагоцитарную активность (ФА) – процент фагоцитирующих нейтрофилов.

Бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) определяли колориметрическим методом по Смирновой О.В. и Кузьминой Т.А. [1966] с тест-культурой *E. coli*. Метод основан на изменении оптической плотности МПБ в процессе роста *E. coli* с испытуемой сывороткой и без. В присутствии сыворотки бактерии подвергаются депрессивному воздействию ее неспецифических гуморальных факторов, что подавляет рост и размножение. Оптическая плотность бульона находится в обратной зависимости от интенсивности БАСК.

Лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК) проводили фотоэлектродиметрическим методом по Дорофейчук А.Г [1979] с использованием тест-культуры *Micrococcus lysodeicticus*. Метод основан на изменении оптической плотности среды в результате способности лизоцима (фермента мурамидаза с муреиназной активностью) лизировать чувствительную тест-культуру в 0,5 % стерильном растворе NaCl.

Полученные количественные показатели обработаны на РС с помощью пакета статистических программ «Statistica» и программы Excel 2000, для оценки достоверности полученных результатов использовали критерий Стьюдента и Фишера.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Экспериментальную работу по исследованию биологических свойств пробиотической культуры *Bac. subtilis* штамм ВІ-12 провели в НИЦ биобезопасности и экологического контроля ресурсов АПК Днепропетровского ГАЭУ и бактериологического отдела Днепропетровской ГЛВМ.

При изучении культуральных свойств исследуемые бациллы засевали на общепринятые (МПБ, МПА) и специальные питательные среды (Громько, Гаузе №2) и выращивали при 37–38 °С в течение 48 час в аэробных условиях.

При светлопольной микроскопии окрашенных по Граму препаратов-мазков из суточной культуры *Bac. subtilis* штамм ВІ-12 обнаружили Г+ прямые палочковидные клетки размером 2,8-3,2×0,6-0,8 мкм, располагающиеся в виде цепочек или одиночно.

В жидких питательных средах культура росла на поверхности бульона в виде беловато-серебристой, плотной морщинистой пленки, плохо разбивающейся при встряхивании. Бульон при этом оставался прозрачным.

На поверхности плотных питательных сред культура формировала колонии двух типов: серовато-белые шероховатые складчатые колонии с изрезанными краями и матовые колонии с менее изрезанными краями и более гладкой поверхностью. Оба типа колоний хорошо снимались бакте-

риальной петлей с поверхности среды. Со временем (5–7 сутки) колонии приобретают темно-серую окраску.

На 2–3 сутки культивирования на плотной питательной среде образуются споры овальной формы, располагающиеся в клетках центрально. При спорообразовании микробные клетки не раздуваются.

Культура растет на питательных средах в присутствии 7 % хлористого натрия, дает положительную реакцию Фогес-Проскауэра, на средах с углеводами происходит аэробное окисление и сбраживание углеводов: глюкозы, арабинозы, ксилозы, лактозы и маннозы.

При оценке ферментативной активности пробиотической культуры установили, что бациллы обладали протеазной, каталазной, нитратредуктазной активностью, гидролизывали крахмал, желатин и казеин, не разлагали тирозин и не гидролизывали мочевины.

Исследуемая культура обладала высокой антагонистической активностью в отношении широкого спектра патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, при этом зона задержки роста при определении методом радиальных штрихов составляла в отношении (M±m в мм): *Staphylococcus aureus* 209 – 26±4; *Staphylococcus epidermidis* – 24±3; *Staphylococcus saprophyticus* – 26±4; *Salmonella typhimurium* – 14±3; *Shigella sonnei* – 12±2; *Esherichia coli* – 26±3; *Proteus vulgaris* – 30±4, *Proteus mirabilis* – 22±2; *Candida albicans* – 28±4.

Методом серийных разведений определили чувствительность пробиотических бацилл к наиболее распространенным антибиотикам, в работе использовали пенициллин, стрептомицин, канамицин, ампициллин, доксициллин. Суточная культура *Bac. subtilis* штамм VI-12 была устойчива к антибиотикам в следующей концентрации: пенициллину – 1,5 мг; стрептомицину – 0,8 мг; канамицину – 1,5 мг; ампициллину – 1,2 мг; доксициллину – 1,5 мг.

Полученные результаты указывают, что культура *Bac. subtilis* штамм VI-12 проявляет выраженную антагонистическую активность к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, проявляя при этом незначительную устойчивость к наиболее распространенным антибиотикам.

Оценку влияния культуры *Bac. subtilis* штамм VI-12 на антигеннеспецифическую резистентность макроорганизма провели на биомодели «белая мышь», как универсальном биообъекте в иммунологии.

Методом бесповторного случайного отбора подобрали две группы (опытную и контрольную) рандомизированных беспородных белых мышей – аналогов по 30 особей обоего пола в каждой, живой массой 18–20 г. Суточную культуру *Bac. subtilis* штамм VI-12 вводили через зонд в желудок в дозе  $2 \times 10^3$  ж.м.к. в течение 7 суток. Изучали влияние живой культуры пробиотика на функциональную активность перитонеальных макрофагов и нейтрофилов, уровень лизоцима и общую бактерицидную активность сыворотки крови в динамике развития иммунобиологических изменений организма – через сутки, а также – 7, 21 и 28 дней после введения бацилл.

Экспериментальные данные иммунобиологических изменений резистентности организма белых мышей, индуцированных метаболической и биологической активностью пробиотических бацилл в динамике физиологических трансформаций макроорганизма представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние культуры *Bac. subtilis* штамм VI-12 на иммунобиологическую резистентность организма белых мышей в динамике процессинга антигенов пробиотика (n=30)

Показатель	Контроль (интактные животные)	Количественные значения показателя в зависимости от времени сканирования (сут.)			
		1	7	21	28
ЛАСК (ед. оптич. плотности)	0,39±0,02	0,39±0,01	0,36±0,01	0,38±0,02	0,39±0,01
БАСК	1,00±0,00	0,79±0,14	0,34±0,07	0,92±0,04	0,99±0,03
ФИ (%)	34,6±0,7	36,3±0,6	36,8±0,4	35,8±0,6	34,6±0,4
НСТ-тест (ед. оптич. плотности)	0,088±0,023	0,085±0,048	0,081±0,041	0,074±0,022	0,084±0,022

На основании динамики изменений количественных показателей иммунобиологических тестов антигеннеспецифической резистентности, приведенных в таблице 1 установлено, что под влиянием инфекционогенеза пробиотической культуры *Bac. subtilis* штамм VI-12 на 7 сутки на-

блюдения происходило незначительное увеличение уровня лизоцима и бактерицидной активности сыворотки крови. Зарегистрированный функциональный уровень иммунобиологической реактивности сохранялся в течение недели, после введения пробиотической культуры сенных бацилл, и на 21 сутки наблюдения сканируемые показатели стали приближаться к исходной физиологической норме интактных животных.

При этом следует отметить, что у опытных животных увеличилась фагоцитарная активность макрофагов, ФИ у интактных мышей составлял 17 %, а через сутки наблюдения у опытных животных – 25 %, через 7 суток после инокуляции сенных бацилл у подопытных животных ФИ был равен 19 %, а через 21 сутки наблюдения – 16 %. При изучении влияния культуры *Bac. subtilis* штамм VI-12 на фагоцитарную активность нейтрофилов определили также их стимулирующее влияние, при этом изменения уровня кислородного метаболизма нейтрофилов не обнаружили.

Резюмируя вышеизложенное можно утверждать, что результаты проведенных исследований показывают, что микробная масса живой культуры *Bac. subtilis* штамм VI-12 оказывает выраженное положительное воздействие на функциональную активность иммунобиологической реактивности макроорганизма подопытных животных в сравнении с показателями интактных особей, повышая продуктивность цензорного реагирования на несингенные факторы неспецифических эффекторов иммунной системы.

**Выводы и перспективы дальнейших исследований.** 1. Пробиотическая культура *Bac. subtilis* штамм VI-12 обладает типичными для вида морфо-тинкториальными и культуральными свойствами, проявляет высокую антагонистическую активность к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов с незначительной устойчивостью к антибиотикам и выраженной биохимической активностью.

2. Микробная масса пробиотической культуры *Bac. subtilis* штамм VI-12 оказывает позитивное влияние на иммунобиологическую реактивность макроорганизма, стимулирует неспецифическую резистентность, повышает поглотительную способность фагоцитов, увеличивает уровень лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови, который не снижается 21 сутки (срок наблюдения 28 суток).

Полученные экспериментальные результаты по изучению биологических свойств и иммунобиологической активности культуры *Bac. subtilis* штамм VI-12 свидетельствуют о перспективности исследований иммуностимулирующего воздействия пробиотических препаратов с использованием живых культур сенных бацилл и возможности их использования для конструирования комплексных пробиотических препаратов с использованием совместимых синергидных композиций микробионтов нормоценоза с пробиотической активностью для иммуностимуляции иммунобиологической реактивности макроорганизма, неспецифической профилактики и терапии инфекционной патологии различной локализации и тяжести генеза.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вплив нового вітчизняного пробіотика «Біонорм П» на ефективність вакцинації проти вірусних хвороб бройлерів [Текст] / І.К. Авдос'єва, В.В. Регенчук, О.Б. Басараб [та ін.] // Ветеринарія. – 2011. – № 10 (107). – С. 12–14.
2. Апатенко В. Багаторівнева структура паразитоценозів в інфекційній патології [Текст] / В. Апатенко // Ветеринарна медицина України. – 2001. – № 9. – С. 16–17.
3. А.с. 1723116 АІ СССР, МКІ<sup>5</sup> С 12 N 1/20, А 61 К 35/74. Штамм бактерій *Bacillus subtilis*, используемый для получения препарата для профилактики и лечения воспалительных процессов и аллергических заболеваний / В.И. Никитенко, И.К. Никитенко (СССР). – Оубл. 30.03.92, Бюл. № 12.
4. Бессарабов Е. Опыт применения микродисперсной формы пробиотика «Лактобифадол» курам [Текст] / Е. Бессарабов // VI Международный ветеринарный конгресс по птицеводству, 26–29 апреля 2010 г. – М., 2010. – С. 158–163.
5. Бондаренко В.М. Ранние этапы развития инфекционного процесса и двойная роль нормальной микрофлоры [Текст] / В.М. Бондаренко, В.Г. Петровская // Вестник РАМН. – 1997. – № 3. – С. 7–10.
6. Зоопатогенные и эпидемически опасные микроорганизмы, выделяемые от птиц в хозяйствах промышленного типа [Текст] / А.Н. Борисенко, Р.Н. Коровин, Т.Н. Рождественская [и др.] // Ветеринарная медицина. – 2004. – Т. 8/4. – С. 119–124.
7. Голуб Ю.С. Ефективність вітчизняного пробіотика «Пробіол» для свиней і бройлерів [Текст] / Ю.С. Голуб, В.П. Неживенко // Птахівництво: міжвід. темат. наук. зб. за матеріалами III міжнар. наук. конф. по птахівництву. – Харків, 2007. – Вип. 60. – С. 43–47.
8. Дерев'яно Г.М. Пробиотичні препарати для профілактики і лікування хвороб та стимулювання росту с.-г. тварин і птиці [Текст] / Г.М. Дерев'яно, Л.В. Божок, О.Ш. Прокопенко // Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2004. – Т. 84. – С. 819–822.

9. Коршунов В.М. Влияние пробиотиков и биотерапевтических препаратов на иммунную систему организма-хозяина [Текст] / В.М. Коршунов // Педиатрия. – 2002. – № 5. – С. 92–95.
10. Методические рекомендации по изучению биологических свойств бактерий рода *Bacillus*. – М., 1998. – 156 с.
11. Смирнов В.В. Современные представления о механизмах лечебно-профилактического действия пробиотиков из рода бактерий *Bacillus* [Текст] / В.В. Смирнов, С.Р. Резник, И.А. Вьюницкая // Микробиол. журн. – 1993. – Т. 54, № 6. – С. 82–94.
12. Тараканов Б.Г. Механизм действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животных [Текст] / Б.Г. Тараканов // Ветеринария. – 2000. – № 1. – С. 47–54.
13. Bansal S. Probiotics in health and diseases [Text] / S. Bansal // J. Assoc. physicians. – 2001. – № 7. – P. 734–741.
14. Factorial correspondence analysis of fear-related behavior traits in Japanese quail / S. Mignon-Grasteau, O. Roussot, C. Delaby [et al.] // Behaviour Processes. – 2003. – Vol. 61 (1–2). – P. 69–75.
15. Gill C. Vitamin and mineral additives for meat quality [Text] / C. Gill // Feed International. – 2000. – Vol. 1. – P. 17–19.
16. Kerti A. Content of retinol and retinyl esters in blood plasma, liver, kidney and reproductive organs of Japanese quails [Text] / A. Kerti, I. Buchholz, F.J. Schweigert // Acta Vet. Hung. – 2002. – Vol. 50 (4). – P. 435–443.
17. Quail becoming popular. Around the world: Poultry International Journal. – January, 2001. – Vol. 40. – 6 p.

#### REFERENCES

1. Vpliv novogo vitchiznjanoogo probiotika «Bionorm P» na efektivnist' vakcinacii proti virusnih hvorob brojleriv [Tekst] / I.K. Avdos'eva, V.V. Regenchuk, O.B. Basarab [ta in.] // Veterinarija. – 2011. – № 10 (107). – S. 12–14.
2. Apatenko V. Bagatorivneva struktura parazitocenoziv v infekcijnij patologii [Tekst] / V. Apatenko // Veterinarna medicina Ukraïni. – 2001. – № 9. – S. 16–17.
3. A.s. 1723116 AI SSSR, MKI5 C 12 N 1/20, A 61 K 35/74. Shtamm bakterij *Bacillus subtilis*, ispol'zuemyj dlja poluchenija preparata dlja profilaktiki i lechenija vospalitel'nyh processov i allergicheskikh zabojevanij / V.I. Nikitenko, I.K. Nikitenko (SSSR). – Opubl. 30.03.92, Bjul. № 12.
4. Bessarabov E. Opyt primenenija mikrodispersnoj formy probiotika «Laktobifadol» kuram [Tekst] / E. Bessarabov // VI Mezhdunarodnyj veterinarnyj kongress po pticevodstvu, 26–29 aprelja 2010 g. – M., 2010. – S. 158–163.
5. Bondarenko V.M. Rannie jetapy razvitija infekcionnogo processa i dvojnaja rol' normal'noj mikroflory [Tekst] / V.M. Bondarenko, V.G. Petrovskaja // Vestnik RAMN. – 1997. – № 3. – S. 7–10.
6. Zoopatogennye i jepidemicheski opasnye mikroorganizmy, vydelyaemye ot ptic v hozjajstvah promyshlennogo tipa [Tekst] / A.N. Borisenko, R.N. Korovin, T.N. Rozhdestvenskaja [i dr.] // Veterinarnaja medicina. – 2004. – T. 8/4. – S. 119–124.
7. Golub Ju.S. Efektivnist' vitchiznjanoogo probiotika «Probil» dlja svinej i brojleriv [Tekst] / Ju.S. Golub, V.P. Nezhipenko // Ptahivnictvo: mizhvid. temat. nauk. zb. za mat. III mizhnar. nauk. konf. po ptahivnictvu. – Harkiv, 2007. – Vyp. 60. – S. 43–47.
8. Derev'janko G.M. Probiotichni preparati dlja profilaktiki i likuvannja hvorob ta stimuljuvannja rostu s. -g. tvarin i ptici [Tekst] // G.M. Derev'janko, L.V. Bozhok, O.Sh. Prokopenko // Veterinarna medicina: mizhvid. temat. nauk. zb. – Harkiv, 2004. – T. 84. – S. 819–822.
9. Korshunov V.M. Vlijanie probiotikov i bioterapevticheskikh preparatov na immunnuju sistemu organizma-hozjaina [Tekst] / V.M. Korshunov // Peditrija. – 2002. – № 5. – S. 92–95.
10. Metodicheskie rekomendacii po izucheniju biologicheskikh svojstv bakterij roda *Bacillus*. – М., 1998. – 156 с.
11. Smirnov V.V. Sovremennye predstavlenija o mehanizmah lechebno-profilakticheskogo dejstvija probiotikov iz roda bakterij *Bacillus* [Tekst] / V.V. Smirnov, S.R. Reznik, I.A. V'junickaja // Mikrobiol. zhurn. – 1993. – T. 54, № 6. – S. 82–94.
12. Tarakanov B.G. Mehanizm dejstvija probiotikov na mikrofloru pishhevaritel'nogo trakta i organizm zhivotnyh [Tekst] / B.G. Tarakanov // Veterinarija. – 2000. – № 1. – S. 47–54.
13. Bansal S. Probiotics in health and diseases / S. Bansal [Text] // J. Assoc. physicians. – 2001. – № 7. – P. 734–741.
14. Factorial correspondence analysis of fear-related behavior traits in Japanese quail / S. Mignon-Grasteau, O. Roussot, C. Delaby [et al.] // Behaviour Processes. – 2003. – Vol. 61 (1–2). – P. 69–75.
15. Gill C. Vitamin and mineral additives for meat quality [Text] / C. Gill // Feed International. – 2000. – Vol. 1. – P. 17–19.
16. Kerti A. Content of retinol and retinyl esters in blood plasma, liver, kidney and reproductive organs of Japanese quails / A. Kerti, I. Buchholz, F.J. Schweigert [Text] // Acta Vet. Hung. – 50(4). – 2002. – P. 435–443.
17. Quail becoming popular. Around the world: Poultry International Journal. – January, 2001. – Vol. 40. – 6 p.

#### Біологічні властивості та імунорегуляторна активність пробіотичної культури *Bac. subtilis* штам ВІ-12

##### І.А. Бібен

На підставі експериментальних досліджень встановлено, що пробіотична культура *Bac. subtilis* штам ВІ-12 має типові для виду морфо-тинкторіальні та культуральні властивості, проявляє високу антагоністичну активність до широкого кола патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів з незначною стійкістю до антибіотиків і біохімічною активністю. Доведено, що мікробна маса позитивно впливає на імунобіологічну реактивність макроорганізму, стимулює неспецифічну резистентність, підвищує поглинальну здатність фагоцитів, збільшує рівень ЛАСК і БАСК.

**Ключові слова:** пробіотична культура *Bac. subtilis*, фагоцитарний індекс, фагоцитарна активність, бартерцидна і лізоцимна активність сироватки крові.

Надійшла 14.04.2015 р. дійшла 06.04.2015 р.