

DOI: 10.26693/jmbs02.06.046

УДК 579.22:579.262:6364

Степанський Д. О.

## ВПЛИВ АУТОСИМБІОНТІВ *A. VIRIDANS* НА СТАН ЗДОРОВ'Я ПОРОСЯТ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

dstepanskiy@gmail.com

В останні роки все більшої популярності набуває використання персоналізованої терапії аутоштамами пробіотичних бактерій. Одним з перспективних мікроорганізмів, що можливо використовувати в якості основи для створення такої терапії є *A. viridans*, який є убіквітарним мікроорганізмом з широким спектром антагоністичної дії.

Метою дослідження було вивчити вплив ауто-симбіонтних *A. viridans* на показники здоров'я поросят. Виходячи з мети, перед нами було поставлено завдання щодо оцінки впливу ауто-симбіонтних *A. viridans* на фізіологічний стан, показники захворюваності, зберігання погोलів'я, приріст маси тіла, стан нормальної кишкової мікрофлори у поросят.

Отримані результати свідчили, що у всіх особин тварин з фекалій було виділено ауто-симбіонтні *A. viridans* в кількості до  $10^3$  КУО/гр. При введенні ауто-симбіонтних аерококів, стан тварин відповідав нормі, не спостерігалось будь-яких патологічних змін в поведінці. *A. viridans* оказували позитивний вплив на нормальну мікрофлору та антагоністичну дію на умовно-патогенну мікрофлору кишечника поросят. Показана регулююча роль мікроорганізмів роду *Aerococcus* в кишковому мікробіоценозі поросят. Показники здоров'я поросят, а саме, випадки діареї та летальності були кращими в дослідній групі в порівнянні з контролем.

Таким чином показано, що *A. viridans* виявляються в кишечнику поросят і є компонентом нормальної мікрофлори, а також мають позитивний вплив на стан нормальної мікрофлори та антагоністичний ефект по відношенню до умовно-патогенної флори кишечника поросят. Використання ауто-симбіонтних *A. viridans* в дозуванні  $1 \times 10^6$  КУО/мл per os вірогідно знижувало кількість діарей у поросят та летальні наслідки.

**Ключові слова:** ауто-симбіонти, *Aerococcus viridans*, нормальна мікрофлора.

**Зв'язок з науковими планами, роботами, темами.** Робота виконана в рамках докторської дисертації «Мікробіологічне обґрунтування аутоштамів роду *Aerococcus* в якості основи для створення нових пробіотиків», № держ. реєстрації 0106U001587.

**Вступ.** Як відомо, нормальна мікрофлора виконує ряд найважливіших функцій в організмі: забезпечення колонізаційної резистентності; регуляція газового складу, рН, участь у водно-сольовому обміні, забезпечення первинної імунологічної толерантності до харчових антигенів, участь в метаболізмі білків, жирів і вуглеводів, регуляція рециркуляції жовчних кислот і інших макромолекул; продукція біологічно активних сполук (амінокислоти, пептиди, аміни, гормони, вітаміни, жирні кислоти, дефензіни, нейропептиди, оксид азоту, інші мікробні модуліни), імуногенна роль [12]. Пробиотичні продукти харчування на основі живих мікроорганізмів, їх метаболітів, інших сполук мікробного походження, здатні підтримувати і відновлювати здоров'я через корекцію мікробної екології організму господаря [8, 10]. Проте з'являються окремі повідомлення про виникнення у осіб, які тривалий час приймають живі пробіотичні мікроорганізми, різних ускладнень, обумовлені перш за все, призначенням великих доз пробіотичних препаратів [6, 7, 9, 11].

В той же час все більшої популярності набуває використання персоналізованої терапії аутоштамами пробіотичних бактерій [3].

*A. viridans* є убіквітарним мікроорганізмом з широким спектром антагоністичної дії, що використовується для корекції різноманітних патологічних станів [1, 4, 5, 13].

**Метою дослідження** було вивчити вплив ауто-симбіонтних *A. viridans* на показники здоров'я поросят.

Виходячи з мети, перед нами було поставлено завдання щодо оцінки впливу ауто-симбіонтних *A. viridans* на фізіологічний стан, показники захворюваності, зберігання погोलів'я, приріст маси тіла, стан нормальної кишкової мікрофлори у поросят.

**Матеріали і методи дослідження.** Виділення аерококів з фекалій поросят здійснювали за допомогою методики [2]. В дослідженні приймали участь 100 новонароджених поросят. Досліджувану групу склали 50 тварин, що отримували per os 1 раз на добу за допомогою дозатору 2 мл ( $1 \times 10^6$  КУО/мл) ауто-симбіонтних *A. viridans*, виділених з калу

**Таблиця 1** – Показники кишкової мікрофлори поросят під впливом аутосимбіонтних *A. viridans* (lg, КУО/мл)

Період спостереження	Мікрофлора	Дослідна група (n=50)	Контрольна група (n=50)	p між групами
На початку досліду (1 день)	Біфідобактерії	8,0±0,065	8,04±0,068	>0,05
	Лактобактерії	8,43±0,07	8,4±0,067	>0,05
	<i>E. coli lac+</i>	8,11±0,069	8,15±0,063	>0,05
	<i>E. coli</i> гемолітична	4,32±0,033	4,3±0,029	>0,05
	<i>Klebsiella spp.</i>	4,04±0,026	4,08±0,028	>0,05
	<i>Proteus spp.</i>	4,0±0,029	4,04±0,024	>0,05
В кінці досліду (28 день)	Біфідобактерії	7,85±0,062 *	7,6±0,051 **	<0,001
	Лактобактерії	8,45±0,069	7,48±0,064 **	<0,001
	<i>E. coli lac+</i>	8,0±0,071	7,89±0,056 **	>0,05
	<i>E. coli</i> гемолітична	2,0±0,006 **	4,0±0,025 **	<0,001
	<i>Klebsiella spp.</i>	– **	3,95±0,022 *	<0,001
	<i>Proteus spp.</i>	– **	3,0±0,015 **	<0,001

**Примітки:** \* (\*\*)  
– p<0,05 (p<0,001) порівняно з вихідними даними у групі за Т-критерієм Стьюдента.

поросят, інші 50 тварин увійшли до контрольної групи. Тривалість досліду – 28 днів. Оцінку ефективності аутосимбіонтних *A. viridans* проводили за наступними критеріями: наявність діареї, падіж молодняку, маса тіла поросят, стан кишкового мікробіоценозу тварин.

Усі досліди проводили у відповідності до законодавства України [Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» / Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 27. – с. 230], правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.].

Дані представлені як середнє арифметичне (M), стандартна похибка середнього (±m); як критерій достовірності відмінностей середніх використовували критерій Стьюдента для незалежних (t) і залежних (T) вибірок, для відносних величин – двосторонній точний критерій Фішера на 5% рівні значимості (p<0,05).

**Результати досліджень та їх обговорення.** У всіх особин тварин з фекалій було виділено ауто-

симбіонтні *A. viridans* в кількості до 10<sup>3</sup> КУО/гр. При введенні аутосимбіонтних аерококів, стан тварин відповідав нормі, не спостерігалось будь-яких патологічних змін в поведінці. Проведені нами дослідження показали зміни в складі мікрофлори поросят після дії аутосимбіонтних *A. viridans*. Результати представлені в **таблиці 1**.

Як видно з даних **таблиці 1**, *A. viridans* оказували позитивний вплив на нормальну мікрофлору та антагоністичну дію на умовно-патогенну мікрофлору кишечнику поросят. Показники нормальної мікрофлори в обох групах за 28 днів дослідження зазнали деяких змін, що можливо пояснити фізіологічною зміною мікробіоценозу, проте жоден з них не знизився до критичних значень. Наприкінці експерименту показники біфідо- і лактобактерій були вірогідно більшими в дослідній групі в порівнянні з контролем (p<0,001), кількість *E. coli* з нормальною ферментативною активністю була приблизно на однаковому рівні (p>0,05). Що стосується умовно-патогенної мікрофлори, то вона виділялась в обох групах на початку досліду в досить великих кількостях (до 2,1×10<sup>4</sup> КУО/гр.) та була представлена гемолітичною кишковою паличкою, мікроорганізмами родів *Klebsiella* та *Proteus*. Проте в кінці досліду мікробіологічна картина щодо умовно-патогенної

**Таблиця 2** – Вплив аутосимбіонтних *A. viridans* на показники здоров'я поросят (абс./% або M±m)

Період спостереження	Контрольна група (n=50)				Дослідна група (n=50)			
	Випадки діареї	Летальні випадки	Маса тіла (кг)	Приріст маси тіла за добу (г)	Випадки діареї	Летальні випадки	Маса тіла (кг)	Приріст маси тіла за добу (г)
Початок досліду	–	–	1,48±0,11	–	–	–	1,64±0,09	–
Кінець досліду	49/ 98%	7/ 14%	5,97±0,23	0,159±0,024	42/ 84%#	– #	6,24±0,29	0,168±0,012

**Примітка:** # – p<0,05 порівняно з відповідним показником контрольної групи за двостороннім точним критерієм Фішера.

флори двох груп сильно відрізнялась ( $p < 0,001$ ), а саме, в дослідній групі були відсутні мікроорганізми родів *Klebsiella* та *Proteus*, кількість гемолітичної *E. coli* була вдвічі меншою ніж в контролі, при чому в контролі вона була майже на такому ж рівні, як і на початку досліджу (10<sup>4</sup> КУО/гр.). Таким чином вищенаведене ще раз підтверджує регулюючу роль мікроорганізмів роду *Aerococcus* в мікробіоценозах.

Показники здоров'я поросят відображені в **таблиці 2**.

Як видно з **таблиці 2**, показники здоров'я поросят, а саме, випадки діареї та летальності були кращими в дослідній групі в порівнянні з контролем. Так, в групі тварин, що отримувала аутосимбіонтні *A. viridans*, було на 14% випадків діареї менше, ніж в контролі ( $p < 0,05$ ). В дослідній групі спостерігалась нульова летальність, при тому що в контролі було 7 (14%) випадків летальності

( $p < 0,05$ ). Такі показники як маса тіла та приріст маси тіла були незначно вище (на 27 та 9 грамів відповідно) в дослідній групі в порівнянні з контролем ( $p > 0,05$ ).

#### Висновки.

1. *A. viridans* виявляються в кишечнику поросят і є компонентом нормальної мікрофлори.
2. *A. viridans* мають позитивний вплив на стан нормальної мікрофлори та антагоністичний ефект по відношенню до умовно-патогенної флори кишечника поросят.
3. Використання аутосимбіонтних *A. viridans* в дозуванні 1\*10<sup>6</sup> КУО/мл per os вірогідно знижувало кількість діарей у поросят та летальні наслідки.

**Перспективи подальших досліджень.** Досліди показали, що симбіонтні аерококи є невід'ємною частиною нормальної мікрофлори кишечника поросят, оказують позитивний вплив на показники їх здоров'я.

### References

1. Stepanskyi DO, Kremenchutskyi HM, Koshova IP, Pysarevska IA. Vplyv autosymbiontiv *A. viridans* pry peroralnomu vvedenni na slyzovu obolonku shlunkovo-kyshkovoho traktu laboratornykh tvaryn. *East Eur Scientific J.* 2017; 18 (1): 68-73. [Ukrainian].
2. Kremenchutskyi HN, Yurhel LH, Sharun OV, Stepanskyi DO, ta in. *Metody vydilennya ta identyfikatsiyi hrampozytyvnykh katalazonehatyvnykh kokiv: metod rekomendatsiyi.* Kyiv, 2009. 19 s. [Ukrainian].
3. *Patent 2139070 RF*, MPK A61 K 35/74, S12 N1/20. Sposob poluchenyaya autoprobityotika, soderzhashcheho zhyvye byfydobakteryi y laktobatsyly / Shenderov BA, Manvelova MA (RF); zayav. 31.03.1999; opubl. 10.10.1999. [Russian].
4. Ryzhenko SA. Antahonistychna aktyvnist probityotiv u vidnoshenni mikroorhanizmv. *Analy Mechnykovskoho instytutu.* 2005; 1: 198. [Ukrainian].
5. Stepanskyi DO, Kremenchutskyi HM, Chuyko VI, Turlyun SYa, ta in. Chastota vyyavlennya i kilksnyi vmist rezidentnykh aerokokiv u riznykh viddilakh polohovykh shlyakhiv vahitnykh zhinok. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny.* 2017; 3: 33–6. [Ukrainian].
6. Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, Valtonen V. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis.* 2003 Mar 15; 36 (6): 775-80. DOI: 10.1086/368080.
7. Stavrou G, Kotzampassi K. Gut microbiome, surgical complications and probiotics. *Ann Gastroenterol.* 2017; 30 (1): 45-53. doi: 10.20524/aog.2016.0086.
8. Reid G, Abrahamsson T, Bailey M, Bindels LB, Bubnov R, Ganguli K, Martoni C, O'Neill C, Savignac HM, Stanton C, Ship N, Surette M, Tuohy K, van Hemert S. How do probiotics and prebiotics function at distant sites? *Benef Microbes.* 2017 Aug 24;8(4):521-533. doi: 10.3920/BM2016.0222.
9. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fondén R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T. Demonstration of safety of probiotics – a review. *Int J Food Microbiol.* 1998 Oct 20; 44 (1-2): 93-106.
10. Reid G. Probiotic use in an infectious disease setting. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017 May;15 (5): 449-55. DOI: 10.1080/14787210.2017.1300061.
11. Marteau P, Seksik P, Jian R. Probiotics and health: new facts and ideas. *Curr Opin Biotechnol.* 2002 Oct; 13 (5): 486-9.
12. Maukonen J, Saarela M. Human gut microbiota: does diet matter? *Proc Nutr Soc.* 2015 Feb; 74 (1): 23-36. DOI: 10.1017/S0029665114000688.
13. Williams RE, Hirsch A, Cowan ST. *Aerococcus* - a new bacterial genus. *J Gen Microbiol.* 1953; 8: 475-80. doi: 10.1099/00221287-8-3-475.

УДК 579.22:579.262:6364

### ВЛИЯНИЕ АУТОСИМБИОНТОВ *A. VIRIDANS* НА СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ ПОРОСЯТ

**Степанский Д. А.**

В последние годы все большую популярность приобретает использование персонифицированной терапии аутоштаммами пробиотических бактерий. Одним из перспективных микроорганизмов, можно использовать в качестве основы для создания такой терапии является *A. viridans*, который является убиквитарным микроорганизмом с широким спектром антагонистического действия.

Целью исследования было изучить влияние аутосимбионтных *A. viridans* на показатели здоровья поросят. Исходя из цели, перед нами была поставлена задача по оценке влияния аутосимбионтных *A. viridans* на физиологическое состояние, показатели заболеваемости, сохранность поголовья, прирост массы тела, состояние нормальной кишечной микрофлоры у поросят.

Полученные результаты свидетельствовали, что у всех особей животных из фекалий были выделены аутосимбионтные *A. viridans* в количестве до  $10^3$  КОЕ / г. При введении аутосимбионтных аэрококков, состояние животных соответствовало норме, не наблюдалось каких-либо патологических изменений в поведении. *A. viridans* оказывали положительное влияние на нормальную микрофлору и антагонистическое действие на условно-патогенную микрофлору кишечника поросят. Показана регулирующая роль микроорганизмов рода *Aerococcus* в кишечном микробиоценозе поросят. Показатели здоровья поросят, а именно, случаи диареи и летальности были лучшими в опытной группе по сравнению с контролем.

Таким образом показано, что *A. viridans* определяются в кишечнике поросят и являются компонентом нормальной микрофлоры, а также оказывают положительное влияние на состояние нормальной микрофлоры и антагонистический эффект по отношению к условно-патогенной флоре кишечника поросят. Использование аутосимбионтных *A. viridans* в дозировке  $1 \times 10^6$  КОЕ / мл per os достоверно снижало количество диареи у поросят и летальный исход.

**Ключевые слова:** аутосимбионты, *Aerococcus viridans*, нормальная микрофлора.

UDC 579.22:579.262:6364

### ***A. viridans* Autosymbionts Influence on the Piglets' Health**

**Stepansky D.**

**Abstract.** Nowadays the use of personificated treatment with autostrains of probiotic bacteria becomes more and more popular. One of the most perspective microorganisms that can be used as a basis for creation of such therapy is *A. viridans*. It is an ubiquitous microorganism with broad-spectrum antagonistic action. An extensive experience with *A. viridans* use for the correction of various pathological conditions has been obtained.

*The purpose of the study* was to examine the impact of *A. viridans* autosymbiont on health indicators of piglets. The task of evaluating the effect of autosymbiotic *A. viridans* on the physiological state, infection rates, live-stock preservation, body weight gain and the state of normal intestinal microflora in piglets was set according to the aim.

*Materials and Methods.* Autosymbiotic aerococcus isolation from piglets' faeces was administered once a day using 2 ml dispenser ( $1 \times 10^6$  colony forming units CFU/ml) to 50 piglets, other 50 piglets were in control group. The duration of study was 28 days. The evaluation of the autosymbiotic *A. viridans* effectiveness was carried out according to the following criteria: presence of diarrhea, death of young pigs, piglets' weight, and intestinal microbiocenosis state of animals.

Obtained results indicated that autosymbiotic *A. viridans* in the amount of up to  $10^3$  CFU / gram were allocated from feces of all animals. When autosymbiotic aerococci were administered, the animal's condition was in line with normal, and no pathological changes in behavior were observed. *A. viridans* had good impact on normal microflora and antagonistic action on opportunistic microflora of intestine. The regulatory role of the *Aerococcus* genus microorganisms in the intestinal microbiocenosis of piglets was indicated.

The health rates of piglets, namely, cases of diarrhea and lethality were better in the experimental group compared with control group. Thus, diarrhea was present in 14% of cases less in the group of animals receiving autosymbiotic *A. viridans* than in the control ( $p < 0.05$ ). There was a zero mortality in the experimental group, whereas there were 7 (14%) cases of mortality ( $p < 0.05$ ) in control. The rates such as weight and weight gain were slightly higher (27 and 9 gr more) in experimental group compared to control group ( $p > 0.05$ ).

Thus, it is shown that *A. viridans* can be found in the intestines of piglets and it is a component of the normal microflora which has a positive impact on the normal microflora state and antagonistic effect against pathogenic intestinal flora of piglets. The use of autosymbiotic *A. viridans* in a dose of  $1 \times 10^6$  CFU/ml significantly reduced the number of diarrheas and lethal effects in piglets.

**Keywords:** autosymbionts, *Aerococcus viridans*, normal microflora.

Стаття надійшла 25.09.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування