

УДК 579.864.1:615

## ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУНОМОДУЛЮВАЛЬНОЇ ДІЇ НОВИХ ПРОБІОТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Ю. О. Мельниченко<sup>1</sup>, Д. Д. Маляр<sup>1</sup>, Л. М. Лазаренко<sup>2</sup>, Л. П. Бабенко<sup>2</sup>, В. В. Мокрозуб<sup>2</sup>,  
О. А. Демченко<sup>2</sup>, М. Я. Співак<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Білоцерківський національний аграрний університет

<sup>2</sup>Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України

*Метою дослідження було визначити імуномодулювальні властивості пробіотичних штамів *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB шляхом дослідження їх впливу на показники імунітету. Дослідження проведено на самицях мишей лінії BaLb/c вагою 18–20 г. Пробіотичні штами бактерій (кожний окремо) вводили мишам *per os* впродовж 7 діб один раз на добу. Доза пробіотичних препаратів на одну мишу (*per os*) складала  $1 \times 10^6$  кл. Мишей присипляли ефірним наркозом, після цього проводили дислокацію шийних хребців. У перитонеальну порожнину за допомогою голки вводили живильне середовище 199 (5–7 мл). Після зовнішнього масажу черевної порожнини шкіряний покрив розрізали і за допомогою голки відбирали перитонеальний ексудат. Активність фагоцитозу (поглинальну здатність перитонеальних макрофагів мишей) вивчали у мікроскопічному тесті. Визначали показник фагоцитозу (ПФ) — відносну кількість клітин (у %), які поглинають латекс, а також фагоцитарне число (ФЧ) — середню кількість частинок латексу, захоплених одним фагоцитом (в ум. од.). Киснезалежну бактерицидність фагоцитів вивчали за допомогою тесту відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест). Під мікроскопом переглядали 100 клітин і вираховували кількість клітин, які містили темно-сині гранули диформазану (у %). За різницею між показниками стимульованого і спонтанного НСТ-тесту визначали функціональний резерв (ФР) фагоцитів (у %). Результати проведених досліджень показали, що введення мишам *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB супроводжувалось активацією киснезалежної бактерицидної активності макрофагів перитонеальної порожнини на 1 та 6 добу досліду, що підтверджувалось суттєвим зростанням кількості НСТ-позитивних клітин. Одночасно встановлено, що пробіотичні штами бактерій ефективно підвищували поглинальну активність макрофагів перитонеальної порожнини. Під їх впливом впродовж усього терміну спостереження зростає ПФ макрофагів, спостерігалось підвищення фагоцитарного числа на 6 добу після введення мишам *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB є перспективними для створення пробіотичних препаратів із імуномодулювальними властивостями.*

Однією з головних причин відходу молодняку тварин та птиці є захворювання, пов'язані з порушенням діяльності шлунково-кишкового тракту, збудниками яких є патогенна мікрофлора. Однак широке застосування хіміопрепаратів різного походження, в тому числі новітніх антибіотиків, призвело до штучного формування резервуарів умовно-патогенної мікрофлори з множинною антибіотикорезистентністю, а також до зміни тяжкості і ступеня розповсюдження інфекційних захворювань. Крім цього, дисфункція імунної системи, яка може виникати внаслідок зміни екології, широкого застосування новітніх хіміопрепаратів різної природи, порушення нормальної мікрофлори тощо також є однією із найважливіших причин підвищення агресивності умовно-патогенних коменсальних мікроорганізмів з подальшим розвитком інфекційно-запальних хвороб [1].

Одержання групи новітніх біотехнологічних препаратів-імунобіотиків на основі представників нормальної мікрофлори, зокрема штамів лакто- та біфідобактерій, є важливою проблемою сучасної біотехнології [2]. Результати експериментальних досліджень, одержані в останні роки свідчать, що під впливом пробіотичних препаратів спостерігали відновлення імунного статусу, підвищення фагоцитарної активності моноцитів, нейтрофілів та макрофагів [3, 4].

Тому актуальною є розробка альтернативних методів профілактики та лікування інфекційно-запальних захворювань тварин, які передбачають використання препаратів природного походження, що мають ефективну антагоністичну дію відносно збудників інфекційних хвороб і здатність балансувати імунну відповідь. Такими препаратами є новітні пробіотики, створені на основі представників нормальної коменсальної мікрофлори — непатогенних молочнокислих бактерій з антибактеріальними й імуномодулювальними властивостями [1, 5].

Мета роботи — визначити імуномодулювальні властивості пробіотичних штамів *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB шляхом дослідження їх впливу на показники набутого імунітету.

**Матеріали і методи.** В роботі використовували штами *L. casei* IMB B-7280 IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB, які одержували з колекції Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К.Заболотного НАН України. Ці штами раніше були виділені нами із асоційованої культури під час лабораторних досліджень ферментованого біологічного матеріалу. Дослідження проводили із використанням ліофілізованих бактерій. Перед кожним експериментом перевіряли життєздатність цих пробіотичних культур шляхом контролю їх росту на середовищі Man-Rogosa-Sharpe (MRS) при 37 °C протягом 24-48 год.

Дослідження проведено на самицях мишей лінії BaLb/c вагою 18-20 г віком 6-8 тижнів, отриманих із розплідника Інституту молекулярної біології та генетики НАН України. Усі дослідження проводили з урахуванням норм Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей від 20.09. 1985, та Закону України № 3447-IV “Про захист тварин від жорсткого поводження”.

Пробіотичні штами бактерій (кожний окремо) вводили мишам per os впродовж 7 діб один раз на добу. Мишей присипляли ефірним наркозом, після цього проводили дислокацію шийних хребців. У перитонеальну порожнину за допомогою голки вводили живильне середовище 199 (5–7 мл). Після зовнішнього масажу черевної порожнини шкіряний покрив розрізали і за допомогою голки відбирали перитонеальний ексудат. Активність фагоцитозу (поглинальну здатність перитонеальних макрофагів мишей) вивчали у мікроскопічному тесті. Визначали показник фагоцитозу (ПФ) — відносну кількість клітин (у %), які поглинають латекс, а також фагоцитарне число (ФЧ) — середню кількість частинок латексу, захоплених одним фагоцитом (в ум. од.). Киснезалежну бактерицидність фагоцитів вивчали за допомогою тесту відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест). Під мікроскопом переглядали 100 клітин і вираховували кількість клітин, які містили темно-сині гранули диформагану (у %). За різницею між показниками стимульованого і спонтанного НСТ-тесту визначали функціональний резерв (ФР) фагоцитів (у %).

Поглиналина активність. Суспензію фагоцитів ( $5 \times 10^6$  кл./мл) у живильному середовищі наносили по 0,2 мл на поверхню лунок предметного скла. Клітини культивували при 37 °C протягом 10 хв. у водонасиченій атмосфері з постійним рівнем CO<sub>2</sub> (5 %). Потім до клітин додавали суспензію латексу у 0,15 М NaCl. Співвідношення між фагоцитами та частинками латексу становить 1:100. Клітини культивували при 37 °C протягом 60 хв у водонасиченій атмосфері з постійним рівнем CO<sub>2</sub> (5 %). Потім моношар клітин двічі відмивали розчином Хенкса від латексу і ретельно висушували. Після цього клітини фіксували метанолом протягом 4 хв., висушували і фарбували розчином азури-еозину

протягом 15–20 хв. Під мікроскопом переглядали 100 клітин і вираховували показник фагоцитозу (ПФ) — відносну кількість клітин (у %), які поглинають латекс, а також фагоцитарне число (ФЧ) — середню кількість частинок латексу, захоплених одним фагоцитом (в ум. од.).

Киснезалежна бактерицидна активність. Киснезалежну бактерицидність фагоцитів вивчали за допомогою тесту відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест). Суспензію фагоцитів ( $5 \times 10^6$  кл./мл) у живильному середовищі наносили по 0,2 мл на поверхню лунок предметного скла. Клітини культивували при 37 °С протягом 10 хв. у водонасиченій атмосфері з постійним рівнем CO<sub>2</sub> (5 %). Потім до клітин додавали 0,1 мл розчину НСТ (0,1 %) — це спонтанний НСТ-тест. У стимульованому НСТ-тесті вносили 0,1 мл суспензії латексу.

Співвідношення між фагоцитами та частинками латексу становило 1:100. Клітини культивували при 37 °С протягом 60 хв. у водонасиченій атмосфері з постійним рівнем CO<sub>2</sub> (5 %). Потім моношар клітин двічі відмивали розчином Хенкса і ретельно висушували. Після цього клітини фіксували метанолом протягом 4 хв., висушували і фарбували сафраніном протягом 45 сек. Під мікроскопом переглядали 100 клітин і вираховували кількість клітин, які містили темно-сині гранули диформазану (у %). За різницею між показниками стимульованого і спонтанного НСТ-тесту визначали функціональний резерв (ФР) фагоцитів (у %) [6].

Штами *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB знаходяться в депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Корисні властивості штамів *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, обумовлені продуктами метаболізму та структурою пептидоглікану клітинної стінки. Штами *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB є нетоксичними, непатогенними, авірулентними, генетично однорідним. Ці штами не піддавались мутагенним впливам та генетичним модифікаціям.

**Результати й обговорення.** Проведеними дослідженнями встановлено, що характерною особливістю функціонально-метаболического стану макрофагів перитонеальної порожнини після введення пробіотиків виявилось різке зростання киснезалежного метаболізму за показниками спонтанного (рис. 1) та стимульованого (рис. 2) НСТ-тесту. Дані стосовно функціонального резерву макрофагів представлено на рис. 3.

Результати проведених досліджень показали, що при введенні мишам *B. animalis* VKL на 1, 6 та 12 добу відсоток НСТ-позитивних макрофагів у спонтанному тесті підвищувався відповідно до  $70,5 \pm 2,3$ ;  $60,1 \pm 1,6$  та  $57,9 \pm 2,0$  %, порівняно з  $42,0 \pm 4,3$  % ( $P < 0,05$ ) у контролі, а у стимульованому — відповідно, до  $75,2 \pm 2,1$ ;  $69,6 \pm 1,9$  та  $68,4 \pm 1,4$  % проти  $59,7 \pm 1,5$  % ( $P < 0,05$ ) у групі контролю. Функціональний резерв макрофагів на 1, 6 та 12 добу не змінювався порівняно з показниками контролю ( $9,9 \pm 0,3$  %) і дорівнював, відповідно,  $10,7 \pm 0,3$ ;  $9,5 \pm 0,4$  та  $10,5 \pm 0,4$  %.

Під впливом *B. animalis* VKB показники спонтанного та стимульованого НСТ-тесту зростали на 1 добу відповідно до  $62,0 \pm 3,4$  та  $71,4 \pm 8,7$  %, на 6 добу — відповідно, до  $59,0 \pm 5,1$  та  $60,0 \pm 2,1$  %. Однак на 12 добу зменшувались до рівня контролю (відповідно, до  $40,0 \pm 3,2$  та  $56,0 \pm 5,6$  %). Функціональний резерв макрофагів зберігався на рівні показників контролю (відповідно  $13,2 \pm 2,1$ ;  $10,0 \pm 1,7$  та  $9,9 \pm 3,1$  %).

У мишей, які отримували *L. acidophilus* IMB B-7279, також спостерігалось підвищення кількості НСТ-позитивних макрофагів у спонтанному та стимульованому НСТ-тесті на 1 добу відповідно до  $60,3 \pm 1,9$  та  $67,1 \pm 2,2$  %, на 6 добу — до  $59,3 \pm 1,4$  та  $68,4 \pm 1,8$  %. На 12 добу показники НСТ тесту зменшувались до рівня контролю (відповідно  $47,6 \pm 1,6$  та  $58,2 \pm 1,8$  %). Функціональний резерв макрофагів після введення мишам *L. acidophilus* IMB B-7279 не змінювався: на 1, 6 та 12 добу дорівнював, відповідно,  $6,7 \pm 0,3$ ;  $9,1 \pm 0,2$  та  $10,6 \pm 0,3$  %.

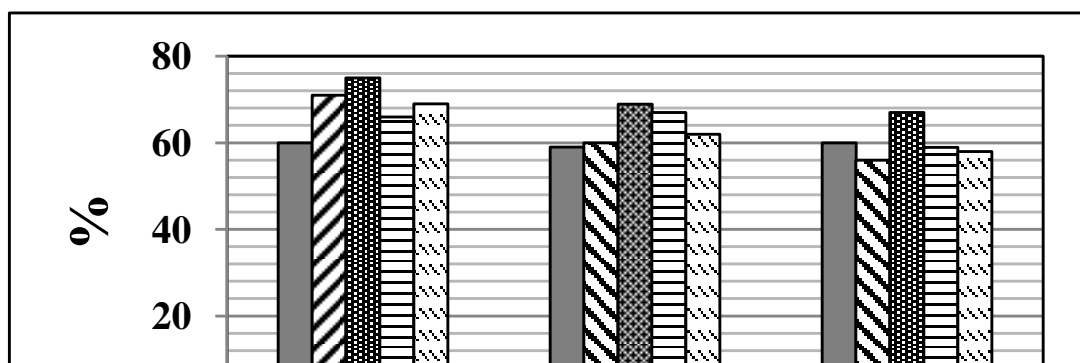


Рис. 1. Показники спонтанного НСТ – тесту макрофагів перитонеальної порожнини інтактних мишей, які отримували пробіотичні штами бактерій

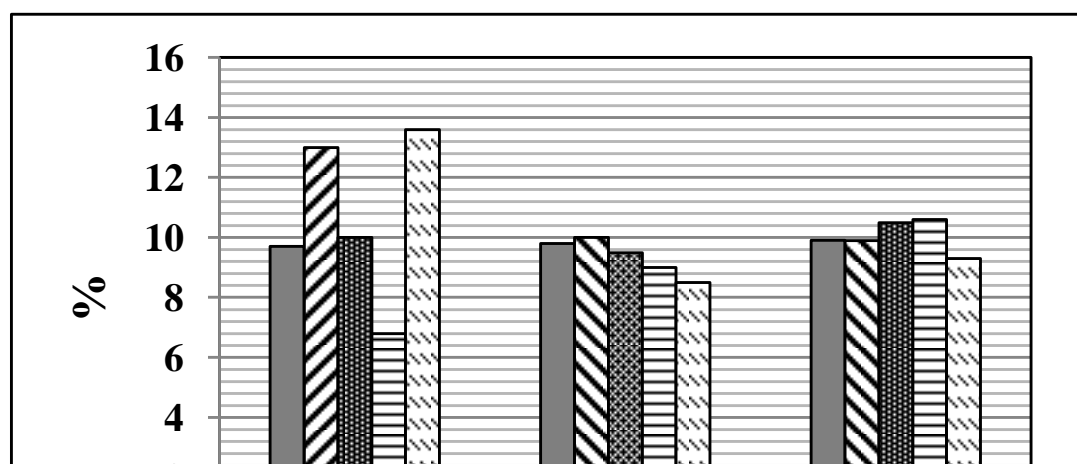


Рис. 2. Показники стимульованого НСТ – тесту макрофагів перитонеальної порожнини інтактних мишей, які отримували пробіотичні штами бактерій

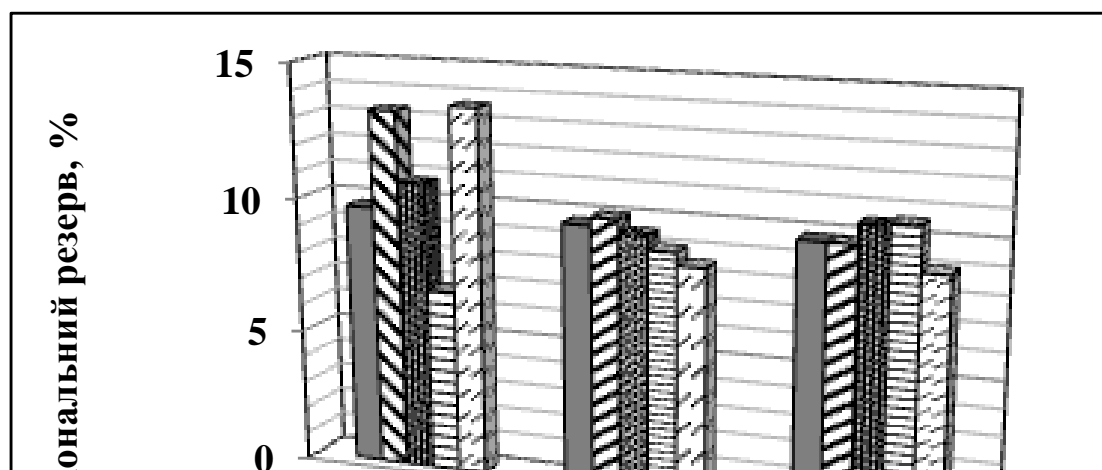


Рис. 3. Функціональний резерв макрофагів перитонеальної порожнини інтактних мишей, які отримували пробіотичні штами бактерій

Під впливом *L. casei* ІМВ В-7280 на 1 добу відсоток НСТ-позитивних клітин у спонтанному та стимульованому НСТ-тесті зростав відповідно до  $55,9 \pm 2,6$  та  $69,6 \pm 2,4$  %. Тенденцію до підвищення показників спонтанного та стимульованого НСТ-тесту встановлено на 6 (відповідно,  $52,5 \pm 2,9$  та  $61,7 \pm 1,6$  %) та 12 (відповідно,  $48,5 \pm 1,4$  та  $57,7 \pm 2,3$  %) добу, проте різниця, порівняно з контролем, була невірогідною. ФР макрофагів мишей, які отримували *L. casei* ІМВ В-7280, на 1, 6 та 12 добу зберігався на рівні контролю, дорівнюючи, відповідно,  $13,7 \pm 0,3$ ;  $8,5 \pm 0,3$  та  $9,2 \pm 0,3$  %.

Отже, результати проведених досліджень показали, що введення мишам *B. animalis VKL*, *B. animalis VKB*, *L. acidophilus IMB B-7279*, *L. casei IMB B-7280* супроводжувалось активацією киснезалежної бактерицидної активності макрофагів перитонеальної порожнини на 1 добу, що підтверджувалось суттєвим зростанням кількості НСТ-позитивних клітин. Підвищення показників НСТ-тесту макрофагів спостерігалось на 6 добу під впливом *B. animalis VKL*, *B. animalis VKB* або *L. acidophilus IMB B-7279*, та на 12 добу під впливом *B. animalis VKL*.

Показано, що препарати *B. animalis VKL*, *B. animalis VKB*, *L. acidophilus IMB B-7279*, *L. casei IMB B-7280* володіють імуномодуючою активністю у відношенні інтенсивності фагоцитуючої функції макрофагів. Встановлено, що під впливом пробіотиків змінювалась фагоцитарна активність макрофагів перитонеальної порожнини за показником фагоцитозу (ПФ) — кількістю макрофагів, які поглинали тест-бактерії (рис.5) та фагоцитарним числом (ФЧ) — середньою кількістю тест-бактерій, які поглинались макрофагами (рис. 4). Після введення мишам *B. animalis VKL* спостерігалось підвищення ПФ на 1, 6 та 12 добу відповідно до  $44,4 \pm 2,2$ ;  $62,4 \pm 1,9$  та  $60,5 \pm 2,5$  %. Встановлено тенденцію до підвищення ФЧ на 1 та 6 добу (відповідно,  $4,5 \pm 0,2$  та  $4,3 \pm 0,2$  ум. Од.), на 12 добу цей показник зростав суттєво — до  $5,7 \pm 0,1$  ум. од. ( $P < 0,05$ ).

Поглиналина активність макрофагів зростала також під впливом *B. animalis VKB*. ПФ підвищувався на 1, 6 та 12 добу після його введення мишам відповідно до  $51,9 \pm 4,9$ ;  $56,0 \pm 4,1$  та  $50,0 \pm 3,1$  %, Однак встановлено лише тенденцію до підвищення фагоцитарного числа макрофагів: цей показник на 1, 6 та 12 добу дорівнював, відповідно,  $4,5 \pm 0,9$ ;  $4,0 \pm 0,8$  та  $4,0 \pm 1,0$  ум. од.).

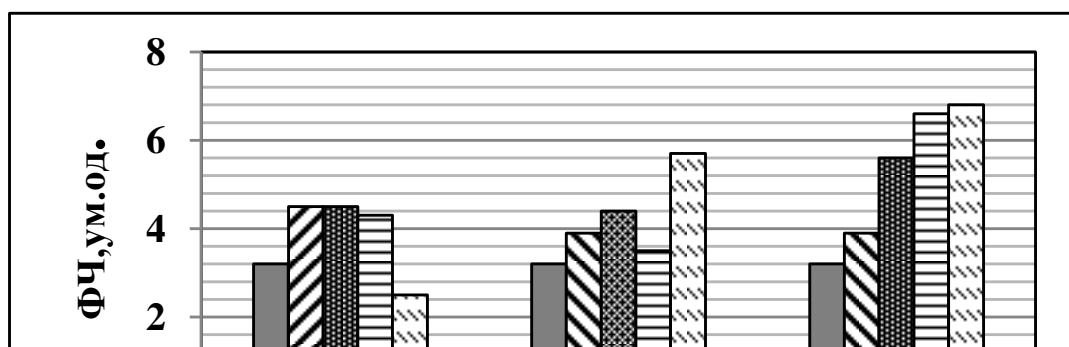


Рис. 4. Фагоцитарне число макрофагів перитонеальної порожнини інтактних мишей, які отримували пробіотичні штами бактерій

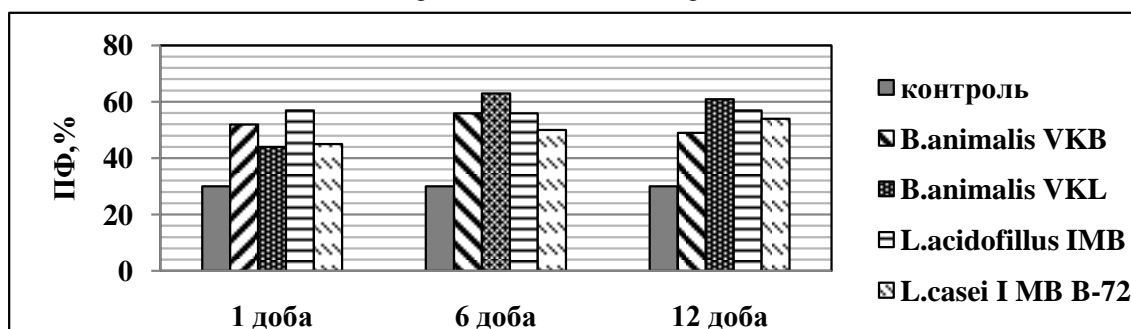


Рис. 5. Показник фагоцитозу макрофагів перитонеальної порожнини інтактних мишей, які отримували пробіотичні штами бактерій

*L. acidophilus IMB B-7279* також мав стимулюючий вплив на фагоцитарну активність макрофагів. На 1, 6 та 12 добу після введення цього пробіотику мишам ПФ підвищувався, відповідно, до  $69,6 \pm 2,0$ ;  $56,3 \pm 1,8$  та  $57,9 \pm 2,7$  %. ФЧ на 3 та 12 добу зберігалось на рівні контролю (відповідно  $4,2 \pm 0,2$  та  $3,6 \pm 0,2$  ум. од.), а на 6 добу — збільшувалося до  $6,7 \pm$

0,21 ум. од. ( $P < 0,05$ ). Під впливом *L. casei* IMB B-7280 на 3, 6 та 12 добу ПФ підвищувався, відповідно, до  $45,7 \pm 1,4$ ;  $50,1 \pm 1,3$  та  $53,2 \pm 1,8$  %. ФЧ на 1 добу не змінювалось відносно контролю ( $2,60 \pm 0,17$  ум. од.), однак на 6 та 12 добу цей показник зростав, відповідно, до  $5,8 \pm 0,2$  та  $6,9 \pm 0,2$  ум. од.

Фагоцитоз-стимулююча дія фагоцитів під впливом досліджуваних штамів бактерій є важливим фактором підвищення неспецифічного захисту організму проти інфекційних агентів [9]. Отже, препарати *B. animalis* VKL, *B. animalis* VKB, *L. acidophilus* IMB B-7279, *L. casei* IMB B-7280 підвищують поглинальну активність макрофагів, що є важливим фактором підвищення захисних сил організму. Таким чином, пробіотичні штами досліджених культур в організмі дослідних тварин мають вплив на метаболізм фагоцитів та викликають їх активацію, що узгоджується з даними літератури [7–11].

Проведені нами дослідження показали, що пробіотичні штами *B. animalis* VKB, *B. animalis* VKL, *L. acidophilus* IMB B-7279, *L. casei* IMB B-7280. ефективно підвищували поглинальну активність макрофагів перитонеальної порожнини. Під їх впливом впродовж усього терміну спостереження зростав ПФ макрофагів, також спостерігалось підвищення фагоцитарного числа на 6 добу після введення мишам *L. casei* IMB B-7280 і на 12 добу після введення *B. animalis* VKL, *B. animalis* VKB, *L. acidophilus* IMB B-7279, *L. casei* IMB B-7280.

## ВИСНОВКИ

Усі пробіотичні штами — *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL та *B. animalis* VKB при введенні інтактним мишам за умов фізіологічної норми проявляли значний модулюючий вплив на неспецифічну резистентність організму: посилювали функціональну активність клітин фагоцитарної системи, що супроводжувалось активацією киснезалежної бактерицидної активності макрофагів перитонеальної порожнини та підвищенням їх поглинальної активності. Підвищення функціональної здатності фагоцитів під впливом пробіотичних препаратів є важливим фактором підвищення неспецифічного захисту організму проти інфекційних агентів.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується продовження досліджень, спрямованих на вивчення ефективності застосування нових пробіотиків у птахівництві, з метою створення ефективних препаратів природного походження для підвищення природної резистентності та продуктивності птиці.

## NEW IMMUNOMODULATORY PROBIOTICS RESEARCH EFFECT

*Y. Melnichenko*<sup>1</sup>, *D. Malyar*<sup>1</sup>, *L. Lazarenko*<sup>2</sup>, *L. Babenko*<sup>2</sup>, *V. Mokrozub*<sup>2</sup>,  
*O. Demchenko*<sup>2</sup>, *M. Spivak*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bila Tserkva National Agrarian University

<sup>2</sup>Institute of Microbiology and Virusology named after Zabolotny of NAS

## SUMMARY

The aim of the study was to determine the properties of immunomodulatory probiotic strains *L. casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279, *B. animalis* VKL and *B. animalis* VKB by examining their effects on the immune system. The study was carried out on female mice BaLb/c weighing 18-20 g. Probiotic strains of bacteria (each separately) were administered (per os) for 7 days once a day. Dose of probiotics per mouse (per one) was  $1 \times 10^6$  cells. Mice were euthanized and anesthesia was conducted after cervical dislocation. In the peritoneal cavity was injected with a needle 199 medium (7.5 ml). Outdoor massage after abdominal skin was cut with a needle and

collected peritoneal exudate. Phagocytic activity (absorbency mouse peritoneal macrophages) were studied in a microscopic test. Determined rate of phagocytosis (PF) — the relative number of cells (in %) that absorb latex and phagocytic number (PF) - average number of latex particles captured one phagocyte (in cond. ed.). Oxygen dependant bactericidal phagocytes were studied using nitroblue tetrazolium test (NBT - test). Under the microscope has been accessed 100 cells, and the amount of cells containing dark — blue granules of diformazan (in %). The difference between the rates of spontaneous and stimulated NBT test determined the functional reserve of (FR) phagocytes (in %). The studies have shown that treatment of mice with *L. casei* IMB B- 7280, *L. acidophilus* IMB B- 7279, *B. animalis* VKL and *B. animalis* VKB was accompanied by activation of the bactericidal activity of macrophages oxygen dependant peritoneal cavity at 1 and 6 day of the experiment, which was confirmed by significant increase in the number of NBT — positive cells. At the same time found that probiotic bacteria strains effectively increased phagocytic activity of macrophages peritoneal cavity. Under their influence throughout the observation period grew PF macrophages, there was an increase of phagocytic in 6 days after administration to mice. *L. casei* IMB B- 7280, *L. acidophilus* IMB B- 7279, *B. animalis* VKL and *B. animalis* VKB are promising to create probiotics with immunomodulatory properties.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Ю. А. Мельниченко<sup>1</sup>, Д. Д. Маляр<sup>1</sup>, Л. М. Лазаренко<sup>2</sup>, Л. П. Бабенко<sup>2</sup>, В. В. Мокрозуб<sup>2</sup>,  
О. А. Демченко<sup>2</sup>, Н. Я. Спивак<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белоцерковский национальный аграрный университет

<sup>2</sup>Институт микробиологии и вирусологии имени Д. К. Заболотного НАН Украины

#### А Н Н О Т А Ц И Я

Целью исследования было определить иммуномодулирующие свойства пробиотических штаммов *L. casei* IMB B- 7280, *L. acidophilus* IMB B- 7279, *B. animalis* VKL и *B. animalis* VKB путем исследования их влияния на показатели иммунитета. Исследование проведено на самках мышей линии BaLb/c весом 18-20 г. Пробиотические штаммы бактерий (каждый отдельно) вводили мышам per os в течение 7 суток один раз в сутки. Доза пробиотических препаратов на одну мышь (per os) составляла  $1 \times 10^6$  кл. Мышей усыпляли эфирным наркозом, после этого проводили дислокации шейных позвонков. В перитонеальную полость с помощью иглы вводили питательную среду 199 (5-7 мл). После наружного массажа брюшной полости кожный покров разрезали и с помощью иглы отбирали перитонеальный экссудат. Активность фагоцитоза (поглотительную способность перитонеальных макрофагов мышей) изучали в микроскопическом тесте. Определяли показатель фагоцитоза (ПФ) — относительное количество клеток (в %), которые поглощают латекс, а также фагоцитарное число (ФЧ) — среднее количество частиц латекса, захваченных одним фагоцитом (в усл. ед.). Кислородозависимую бактерицидность фагоцитов изучали с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ - тест). Под микроскопом просматривали 100 клеток и рассчитывали количество клеток, содержащих темно-синие гранулы диформаза (в %). По разнице между показателями стимулированного и спонтанного НСТ - теста определяли функциональный резерв (ФР) фагоцитов (в %). Результаты проведенных исследований показали, что введение мышам *L. casei* IMB B- 7280, *L. acidophilus* IMB B- 7279, *B. animalis* VKL и *B. animalis* VKB сопровождалось активацией кислородозависимой бактерицидной активности макрофагов перитонеальной полости на 1 и 6 сутки опыта, что подтверждалось существенным ростом количества НСТ- положительных

клеток. Одновременно установлено, что пробиотические штаммы бактерий эффективно повышали поглотительную активность макрофагов перитонеальной полости. Под их влиянием в течение всего срока наблюдения роста ПФ макрофагов наблюдалось повышение фагоцитарного числа на 6 сутки после введения мышам. *L. casei* ИМВ В- 7280, *L. acidophilus* ИМВ В- 7279, *B. animalis* VKL и *B. animalis* VKB являются перспективными для создания пробиотических препаратов с иммуномодулирующими свойствами.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Ширококов В. П., Янковский Д. С., Дымент Г. С. Микробная экология человека. К,: ООО «Червона рута-Турс», 2010. — 340 с.
2. Hay P. E. Bacterial vaginosis and miscarriage // Curr. Opin. Infect. Dis. — 2004. — 17. — P. 41–44.
3. Marteau P. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects // Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. — 2003. — Vol. 17, N 5. — P. 725–740.
4. Tannock G. W. Molecular assessment of intestinal microflora // Am. J. Clin. Nutr. — 2001. — Vol. 73 (suppl), — P. 410–414.
5. Hoese C. E., Aitwein J. E. Review. The Probiotic Approach // An Alternative Treatment Option in Urology. — 2005. — 47. — P. 288–296.
6. Современные методы диагностики вирусных респираторных инфекций и их терапии с использованием препаратов интерферона (Методические рекомендации) / Под ред. Модзольского А. Ф., Дяченко Н. С, Спивака Н. Я. — Киев, 1994. — 18 с.
7. Старовойтова С. А. Поиск штаммов бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* перспективных для создания пробиотиков [Текст]: С. А. Старовойтова та ін. // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. — 2009. — Вип. 26. — С. 216–219.
8. Мокрозуб В. В., Лазаренко Я. М., Бабенко Л. П. Антибактеріальні й імуномодулювальні властивості штамів лакто-та біфідобактерій за експериментальної стафілококової інфекції // Біотехнологія. — 2012. — Т. 5, № 2. — С. 98–104.
9. Mokrozub V. V., Lazarenko L. M., Babenko L. P. Effect of probiotic strains of lacto- and bifidobacteria on the activity of macrophages and other parameters of immunity in cases of staphylococcosis / Microb. G. 2012. — V. 74, N 6. — P. 78–86.
10. Маянский Д. Н. Кооперативное взаимодействие клеток при иммунном ответе [Текст]: // Успехи совр. биол. — 1982. — Т. 93. — № 2. — С. 39.
11. Matsuzaki T., Chin J. Modulating immune response with probiotic bacteria // Immunol. Cell Biol. — 2000. — Vol. 78, № 1. — P. 670–673.