

ЕКОЛОГІЧНІ КУЛЬТУРИ *Mycobacterium vaccae* ТА *Aerococcus viridans* — БІОМАРКЕРИ САНІТАРНОГО БЛАГОПОЛУЧЧЯ ЕКОТОПУ КОРІВ

Зажарський В. В., Сосницька А. О., Бібен І. А.

Дніпровський державний аграрно-економічний університет,

Дніпро, Україна, e-mail: zazharskiyv@gmail.com

Важливою, але методологічно складною проблемою ветеринарно-санітарного контролю є постійний епідеміологічний моніторинг біобезпеки зовнішнього середовища, тваринницьких приміщень, ґною, ґрунту та молока. Індикація інфекційних збудників класичними методами лабораторного аналізу може призвести до неповної та несвоєчасної діагностики зоонозних збудників, особливо у разі адаптогенної трансформації прокаріотів під впливом фізико-хімічного та біологічного тиску екотопу середовища проживання транзиторної мікробної асоціації. Водночас відомо, що клінічно здорові тварини у стабільному екотопі середовища проживання, сприятливому для інфекційної патології, не виділяють збудників зоонозів у навколишнє середовище та продукти тваринництва. Біомаркерами санітарного благополуччя та відсутності збудників зооантропонозів можуть бути індигенні прокаріоти з пробіотичною активністю, які існують лише в організмі клінічно здорових тварин і виділяються у зовнішнє середовище, де також проявляють антагоністичний потенціал щодо паразитоценозів мікробного походження. До таких прокаріотичних біомаркерів санітарного благополуччя середовища проживання продуктивних тварин належать *Mycobacterium vaccae* та *Aerococcus viridans*. Це прокаріоти з пробіотичним потенціалом і антагоністичною активністю щодо умовно-патогенної мікрофлори. При цьому аерококи переважно живуть у внутрішньому середовищі макроорганізму в стані фізіологічної норми і вивільняються з нього при патофізіологічних змінах, а мікобактерії *vaccae* переважають у зовнішньому середовищі і належать до сапрофітної асоціації мікробіонтів з тимчасовими здібностями, тобто вони виживають у внутрішньому середовищі макроорганізму обмежений час. Тому ці мікробіонти можна віднести до санітарно-показових і, виступаючи біомаркерами інфекційного благополуччя, вони дають інформацію про стан мікробного ландшафту внутрішнього та зовнішнього середовища організму продуктивних тварин

Ключові слова: *Mycobacterium vaccae*, *Aerococcus viridans*, мікробні біомаркери, санітарне благополуччя, біовластивості екопрокаріотів

Організм теплокровних тварин є своєрідною біологічною лабораторією з культивування мікробіальної нормобіоти, тому що він заселений багаточисельними видами індигенних і транзиторних мікроорганізмів, які за принципом хеомостатного ферментеру перманентно розвиваються і накопичують біомасу у внутрішньому середовищі макроорганізму, переважно у товстому кишечнику моногастричних тварин, а також у передшлунках — жуйних тварин [1–3, 15]. Індигенна пробіотична мікробіота макроорганізму виконує біологічно важливі функції з забезпечення фізіологічного благополуччя у вигляді динамічного дифузного мікробіального провізорного органу і тому є обов'язковим компонентом життєзабезпечення і нормального фізіологічного функціонування організму людини і тварин [4–6].

Біологічний зв'язок сукупності чутливих макроорганізмів і різномірної популяції мікробіонтів екотопу існування теплокровних організмів є нативною константою, яка перманентна і облігатна в просторі і часі [7, 8, 16]. Багатоклітинні організми за багатомільйонний період розвитку в аспекті дарвінівської еволюції дивергували за рахунок видоутворення і адаптації до постійних змін зовнішнього середовища та катастроф «пляшкової шийки». Таким чином, в результаті перманентного прогресування біологічної організації впродовж всієї еволюційної історії існування і розвитку клітинних форм біологічного життя від дебютних біоподій РНК-світу і виникнення LUCA до сучасного біорізноманіття світу представників домену еукаріотів, яке сформувалося у кайнозойську еру. Весь термін дарвінівського еволюційного формування і розвитку біосфери, багатоклітинні еукаріотичні макроорганізми знаходились в асоціативній

взаємодії з прокаріотичним світом мікроорганізмів, з усім його видовим різноманіттям і оригінальністю біоструктури [9, 10]. І в сучасний період еволюційного адаптогенезу біосфери багатоклітинні форми органічного життя існують у світі мікроорганізмів, які мають домінуючий вплив на розвиток біогеологічних процесів на Землі в планетарному масштабі. Як казав фундатор класичної мікробіології Луї Пастер: «Мікроби — це нескінченно малі істоти, які відіграють у природі нескінченно велику роль» [11, 12].

Прокаріоти біосфери проявляють яскраво виражену екологічну пластичність і здатні адаптуватись до самих різноманітних екологічних ніш живої і неживої природи [13, 14]. Внутрішнє середовище великої кількості наземних теплокровних багатоклітинних тварин, які мешкають в дикій і антропогенній сферах, представляють велике поле можливостей симбіотного існування в якості нормофлори індигенного походження. Такі асоціації мікробіонтів, що адаптувались до внутрішнього середовища теплокровних і холоднокровних тварин в процесі історичного еволюційного розвитку міжвидових взаємовідносин прокаріотного і еукаріотного доменів відносять до резидентної мікрофлори з пробіотичними потенціями і цілеспрямованими антагоністичними активностями в конкурентному протистоянні в боротьбі за володіння екологічними нішами існування у вигляді внутрішнього середовища чутливих тварин. При цьому резидентна мікрофлора в процесі еволюційного адаптогенезу до симбіотних взаємовідносин з макроорганізмом хазяїна стала виконувати важливу роль в регуляції метаболічних перетворень в шлунково-кишковому тракті, особливо у жуйних травоядних тварин зі складною системою перетравлення в передшлунках за допомогою екзоферментативного позаклітинного розщеплення мікробіотної асоціації складно організованих органічних сполук. Окрім ферментативної деструкції різноманітної органіки в порожнині кишкової трубки, мікробіоти нормоценотичної асоціації беруть активну участь у регуляції морфокінетичної діяльності кишечника, метаболізують складні органічні сполуки з ознаками несигенної генетичної структури і володіють вираженими детоксикаційними потенціями, синтезують численні біологічні речовини, що мають життєво важливе значення для фізіологічної діяльності макроорганізму і перманентно стимулюють імунобіологічну активність лімфоїдної системи в її головній функції — нагляду і контролю генетичного гомеостазу макроорганізму [5, 6].

Мета роботи: ізолювати і вивчити біологічні властивості екологічних культур мікобактерій і аерококів як біомаркерів інфекційного благополуччя і з'ясувати їх сануючу роль в нативній мікробіальній асоціації в екоотопі існування дійних корів.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження проводились в навчально-науковій лабораторії кафедри інфекційних хвороб тварин ФВМ ДДАЕУ і інфекційному віварії кафедри.

Ізоляцію атипичних мікобактерій проводили висівом превентивно оброблених за методом Алікаєвої В. П. зависей дослідного матеріалу. Зразки гною корів і ґрунту МТФ обробляли 20 % розчином сірчаної кислоти з експозицією 20 хв. Відмивали кислоту тричі стерильним фізрозчином. Висіви проводили на живильні середовища Левенштейна-Йенсена, Стоунбрінга і Петраньяні.

Молоко для дослідження центрифугували за 3000 об/хв впродовж 20 хв, осад і сливки змішували, а середню частину видалляли. Суміш в кількості 5,0 см³ розбавляли 5,0 см³ етанолу, 5,0 см³ ефіру і 10,0 см³ 25 % антиформіну. Усі компоненти ретельно перемішували шутеліруванням і термостатували за 37-38 °С до повної гомогенізації. Після чого добавляли 25,0 см³ стерильного ізотонічного розчину 0,9 % кухарської солі, суміш три рази центрифугували 30 хв за 3000 об/хв. З осаду готували препарати-мазки, фарбували за Грамом і Циль-Нільсеном, а також робили висіви на живильні середовища.

Культивували посіви атипичних мікобактерій в пробірках під гумовими пробками в термостаті за 25 °С, 37–38 °С і 45 °С впродовж 4 тижнів в темряві і при доступі світла, з додаванням та без додавання до поживного середовища 5 % кухарської солі. Ізольовані культури утримували при 4–6 °С в темряві в побутовому холодильнику. Бактеріологічну чистоту і морфо-тинкторіальні властивості вивчали в пофарбованих за Циль-Нільсеном препаратах-мазках зі сформованих колоній на щільному середовищі.

Видову ідентифікацію ізольованих культур атипичних мікобактерій проводили відповідно визначника Берджи за рядом нагальних характерних ознак, а саме: термін первинного зростання культури, тип сформованих колоній і здатність до пігментоутворення при світлі і в темряві; зростання колоній за 25 °С, 37–38 °С і 45 °С, резистентність до 5 % розчину кухарської

солі та біохімічні властивості по відношенню до саліцилату натрію, реакції редукції телуриту калію, гідроліз Твін-80, каталазну і амідазну активність. Антибіотикорезистентність встановлювали методом дисків в чашках Петрі з елективно-селективним щільним поживним середовищем.

Серологічні дослідження проводили за загальноприйнятими методиками постановки РНГА. Сироватку для серологічної реакції виготовляли за відстоювання крові в термостаті і подальшої ретракції сгустку крові. Стабілізовані і танізовані еритроцити барана сенсibiliзували додаванням сенситину ААМ. Досліджувану сироватку розводили фізрозчином з кроком два з титру 1:10 до титру 1:5120. Реєстрували результати реакції в хрестах.

Патогенність ізольованих культур атипичних мікобактерій вивчали при зараженні рандомізованих безпорідних нелінійних лабораторних тварин — мурчаків, кроликів, білих мишей і курчат. Всіх лабораторних тварин перед біопробами перевіряли на спонтанне інфікування мікобактеріями шкірно-алергічною пробой PPD — туберкуліном для ссавців і ААМ-сенситином, виробництва Сумської біофабрики.

Мурчаків живою масою 300–350 г заражали зависсю мікобактерій в ділянці паху; кроликів сірого кольору, живою масою 2,2–2,8 кг заражали інтравенозно в ділянці вуха; білих мишей, живою масою 20–22 г заражали підшкірно в ділянці спини і курчатам 90–120 денного віку вводили біоматеріал в підкрильцеву вену. Інфікували мікобактеріальними зависями на стерильному фізросчині, які готували з сирової невіджатої бактеріальної маси двотижневих культур з середовища Левенштейна-Йенсена.

Для ізоляції польових екологічних культур *Aerococcus viridans* використовували оксидазно-редуктивні властивості ауто-симбіонтних індигенних культур на селективно-індикаторних щільних поживних середовищах наступного складу: КІ — 26 г, розчинний крохмаль — 10,0 г, поживний агар — 30,0 г, H_2O — 1000,0 cm^3 . Стерилізували автоклавуванням за 1,5 атм 30 хв. Аерококи культивували за 37–38 °С. Для індикації аерококів наносили 10 % розчин H_2SO_4 . Індикаторною ознакою була поява темно-фіолетової зони навколо колоній аерококів. Типові колонії пересівали на МПА і в МПБ.

Морфо-тинкторіальні властивості ізольованих культур аерококів вивчали в препаратах-мазках пофарбованих за Грамом і Романовським-Гимза. Культуральні і біохімічні властивості вивчали за офіціальними методиками лабораторного дослідження для кокових бактерій.

Оксидазну активність культур визначали по здатності аерококів при культивуванні на селективно-діагностичних щільних середовищах окисляти калію йодид до йоду. В якості індикатору до складу МПА додавали розчинний крохмаль. Після інкубації посівів при 37–38 °С впродовж двох діб навколо штрихових колоній аерококів повинно з'явитись темно-синє забарвлення не менш 10 мм у діаметрі.

Антагоністичну активність культур перевіряли у відношенні до тест-мікробів методом штриха на МПА. Антибіотикорезистентність встановлювали методом дисків в чашках Петрі з МПА.

Біологічні властивості ізольованих культур аерококів вивчали при інфікуванні добовою бульйонною культурою об'ємом 0,5 cm^3 рандомізованих безпорідних нелінійних лабораторних тварин — мурчаків, кроликів, білих мишей і курчат.

Мурчакам живою масою 220–250 г вводили біоматеріал в ділянці паху; кроликам сірого кольору, живою масою 1,8–2,0 кг — інтравенозно; білим мишам, живою масою 18–20 г — підшкірно і курчатам 90 денного віку — в підкрильцеву вену. За дослідними тваринами спостерігали впродовж десяти діб.

Результати дослідження та обговорення. У дослідному фермерському господарстві Дніпропетровської області, де утримувалось 16 дійних корів провели мікробіологічне дослідження гною, ґрунту і молока від дійних корів. Фермерське господарство було стабільно благополучне за інфекційною патологією. Тварини знаходились в умовах необхідного фізіологічного добробуту, зоогігієнічні норми утримання і годівлі виконувались в повному обсязі згідно з офіціальними нормативами. Проводився перманентний епідемічний моніторинг інфекційної ситуації і ветеринарно-санітарний контроль стану здоров'я і якості тваринницької продукції.

Загально прийнятими методами бактеріологічного аналізу провели дослідження гною, ґрунту і молока від корів для ізоляції мікобактерій і аерококів, як біомаркерів інфекційного благополуччя тварин і навколишнього середовища.

У результаті бактеріологічного дослідження проб гною, навколишнього ґрунту і молока корів у фермерському господарстві були ізольовані в чистій культурі, ідентифіковані до виду і досліджені біологічні властивості у трьох культур атипових мікобактерій *Mycobacterium vaccae*, ізольованих з гною (культури № 1, № 2 і № 3) і по одній культурі отриманих з ґрунту і молока (культури № 4 і № 5), які на підставі комплексного аналізу біологічних властивостей були охарактеризовані як екологічні і індигенні по відношенню до корів.

Екологічні культури *Mycobacterium vaccae* володіли наступними спільними біологічними характеристиками.

Морфо-тинкторіальні властивості. Прокаріоти *Mycobacterium vaccae* у мазках пофарбованих за методом Ціля-Нільсена мали вигляд прямих паличок, довгих або коротеньких, яскраво-червоного кольору, які розташовувались у полі зору поодинокі або безладними скупченнями. Поряд з паличками зустрічались і кокові форми, теж кислоторезистентні.

Культуральні властивості. Ізольовані мікобактерії були швидкозростаючими мікроорганізмами, добре адаптованими до елективних елективно-селективних щільних поживних середовищ, на яких культивують прокаріоти роду *Mycobacterium*. По відношенню до кисню відкритого повітря культури були факультативними анаеробами.

На яєчних щільних елективно-селективних живильних середовищах Левенштейна-Йенсена, Стоунбрінга, Петраньяні культури формували первинні колонії на 4–5 добу культивування за 25 і 37 °С, як в присутності 5 % NaCl та без додавання кухарської солі, тобто проявляли характерну діагностичну ознаку — толерантність до 5 % NaCl. Культури синтезували пігмент жовтого кольору в темряві і на світлі, тобто проявляли діагностично значущу властивість — скотохромогенність. За 45 °С культура не зростала, що вказує на температурочутливість до 45 °С.

Дослідні культури атипових мікобактерій були каталазопозитивні, гідролізували твін-80, позитивно реагували з телуритом калія, давали позитивну реакцію на карбамід, нікотинамід, піроцинамід, тобто проявляли амідазну активність, що в сукупності морфологічних, фізіологічних і біохімічних властивостей підтверджує їх видову приналежність.

Виконуючи функції екологічних сапрофітів ґрунту, мікобактерії вакце входили до складу транзиторної симбіотичної мікробної асоціації корів з вираженими імунomodulatory та пробіотичними потенціями. На підставі апатогенності і комплексу позитивних біологічних властивостей їх віднесли до убіквітарної прокаріотної мікробіоти здорових і фізіологічно повноцінних корів, і в цілому ці мікробіоти були розповсюджені в технологічному середовищі екотопу сільськогосподарських тварин фермерського господарства.

Патогенність культур. Екологічні культури *Mycobacterium vaccae* були повністю апатогенні для мурчаків, кроликів, білих мишей і курчат за традиційного випробування культур мікобактерій в біопробі на лабораторних тваринах. В нативних умовах ферми мікобактерії вакце виконували роль екологічних сапрофітів, і як індигенні прокаріоти входили до складу нормобіоти клінічно здорових тварин, при цьому проявляли природну резистентність до більшості антибіотиків і антагоністичну активність до умовно-патогенної прокаріотичної мікрофлори *in vivo* & *in vitro*.

Антигенні і серологічні властивості культур. За парентерального введення культури атипових мікобактерій викликали короткострокову сенсibiliзацію до деяких родових мікобактеріальних антигенів, що проявлялось реакцію на ААМ зі зникненням реагування через чотири–шість місяців після інфікування. Штами індукували синтез Ат, які реєструвалися в РНГА за традиційною методикою постановки серологічної реакції.

Кількісні характеристики титру антитілогенезу, індукованого інфікуванням кроликів атиповими мікобактеріями представлені у таблиці 1.

Аналізуючи дані таблиці 1 нами визначено, що всі культури ізольованих атипових мікобактерій були активними індукторами антитілогенезу з високим титром накопичення імунoglobulinів. Найбільшу активність виявили у культури № 3 з титром 1:2560 на ++; найменшу — у культури № 4 з титром 1:640 на ++; решта культур мали проміжну активність антитілогенезу.

Таблиця 1 — Титр Ат в РНГА сироватки крові кроликів внутрішньовенно інфікованих екологічними культурами *Mycobacterium vaccae*

№ культури	Розведення сироватки крові									
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120
1	++++	++++	++++	+++	+++	+++	++	+	+/-	+/-
2	++++	++++	++++	+++	+++	+++	++	++	+	+/-
3	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	++	+
4	++++	++++	++++	+++	++	++	++	+	+/-	-
5	++++	++++	++++	+++	+++	+++	++	++	+	+

Довгострокове зберігання культур досягалось за процедурою ліофілізації, а короткострокове збереження — утриманням мікобактерій в анаеробних умовах (під гумовими пробками) на елективних живильних середовищах за 4–6 °С до 6 місяців (термін спостереження).

В результаті бактеріологічного дослідження проб молока корів, навколишнього ґрунту і гною корів у фермерському господарстві були ізольовані в чистій культурі, ідентифіковані до виду і досліджені біологічні властивості у шести культур *Aerococcus viridans*, ізольованих з молока і по одній культурі отриманих з ґрунту і гною, які на підставі комплексного аналізу біологічних властивостей були охарактеризовані як екологічні і індигенні культури нормобіоти корів.

Індигенні культури *Aerococcus viridans* володіли наступними спільними біологічними характеристиками.

Морфо-тинкторіальні властивості. Аерококи були представлені нерухомими безкапсульними кулястими грампозитивними прокаріотичними невеличкими клітинами, які в препаратах-мазках з МПА розташовувались парами чи нерегулярними скупченнями, у мазках з МПБ- тетрадами.

Культуральні властивості. По відношенню до атмосферного кисню аерококи були факультативними анаеробами, але краще росли у мікроаерофільних умовах. На поверхні щільних середовищ аерококи формували дрібні колонії, сірувато-білого кольору, іноді бусинкоподібні. У МПБ утворювали гомогенне помутніння, що мало тенденцію перетворюватися в зернистий осад. На кров'яному агарі аерококи зростали крупними колоніями і викликали зону позеленіння навколо окремих колоній, тобто індукували альфа-гемоліз. Мали температурний оптимум культивування $36,0 \pm 1,0$ °С, але могли репродукуватися починаючи від 10 °С, але при 45 °С ріст припинявся. Аерококи були здатні рости на середовищах, що містять 6,5 % NaCl і проявили чутливість до бацитрацину, що є діагностичною ознакою. Також всі культури показали високу чутливість до більшості традиційних антибіотиків.

Біохімічні властивості. За фізіологічними характеристиками відносились до хемоорганотрофів з окисним метаболізмом, вуглеводи ферментували з утворенням кислоти без газу. По відношенню до каталази біли негативними або іноді незначно позитивними, желатин не розріджували, нітрати не відновлювали, ацетоїн не утворювали, рафінозу не зброджували, коагулазу не синтезували, володіли оксидазною активністю в тесті з KI на селективно-діагностичному середовищі.

Ріст аерококів був залежний від присутності в живильному середовищі біотину, пантотенової і ніотинової кислот, але додавання Tween-80 замінює потребу в біотині. Культури не використовували вітамінів групи В: тіаміну, рибофлавіну, піридоксину, фолієвої і флавонової кислот, але були потрібні екзогенні пурини. При цьому гуанін і ксантин були взаємозамінні з аденіном. Культури аерококів не мали потреби екзогенних піримідинів і володіли варіабельними штампними розбіжностями в амінокислотах. При культивуванні в молоці з 1 % метиленової синьки, не відновлювали фарбник і підкислювали молоко без згортання.

При культивуванні в 1,0 % глюкозному МПБ — кінцеве рН досягало значення 5,1–5,8 і ріст ставав мікроаерофільним. За аеробних умов культури активно продукували пероксид водню. Максимальна продукція перекису водню спостерігалась в ранній період логарифмічної фази росту при нетривалій фазі стаціонарного розвитку культури.

Біологічні властивості штаму. Екологічні культури індигенного прокаріоту *Aerococcus viridans* були повністю апатогенні для мурчаків, кроликів, білих мишей і курчат за методологією

традиційного біологічного дослідження бактерій на лабораторних тваринах. Як сапрофіти, аерококи широко розповсюджені в природі серед теплокровних і холоднокровних тварин, а в організмі корів як індигенні прокаріоти входили до складу нормобіоти клінічно здорових тварин, разом з тим проявляли природну резистентність до більшості антибіотиків і виражену антагоністичну активність до умовно-патогенної прокаріотичної мікрофлори *in vivo* & *in vitro*, але ці прокаріоти мають фізіологічну особливість — за патофізіологічного стану макроорганізму вони вивільнюються в зовнішнє середовище і персистують тільки в клінічно здоровому організмі. Тому в профілактичних і терапевтичних цілях їх потрібно перманентно додавати до раціону хворих тварин. Тобто наявність в організмі *Aerococcus viridans* є біомаркером санітарного благополуччя тварини і навколишнього середовища.

Висновки. 1. Екологічні культури *Mycobacterium vaccae* виконують біологічні функції екологічних сапрофітів ґрунту і входять до складу транзиторної симбіотичної мікробіальної асоціації сільськогосподарських тварин з вираженими імуномодуляторними та пробіотичними потенціями. Екологічною нішею *Mycobacterium vaccae* є високоякісний ґрунт з великим вмістом органічного добрива, де мікобактерії входять до асоціації мікроорганізмів ґрунту, що забезпечують деструкцію і мінералізацію складних органічних сполук та вступають в антагоністичні конкурентні відносини з не автохтонними інфектопатогенами тваринного походження, збудниками зооантропонозів.

2. Індигенні культури *Aerococcus viridans* входять до складу мікробіоти корів і виділяються з молоком, як пробіотичні прокаріоти корисні для людини. В організмі тварин аерококи виконують фізіологічно важливі функції імунопротекції слизових оболонок товстого кишечника в результаті конкурентної колонізації і синтезу пероксиду водню та біоактивних речовин з антагоністичною активністю до транзиторної умовно-патогенної мікрофлори, але за розвитку емерджентної інфектопатології вони звільнюються в зовнішнє середовище, тому їх можна вважати санітарно-показовими мікробіонтами з пробіотичними потенціями, які є біомаркерами санітарного благополуччя тварин і навколишнього середовища.

Перспективи подальших досліджень. Ізольовані культури екологічних індигенних прокаріот з пробіотичними потенціями і санітарно-показовими інформаційними можливостями є перспективними біомоделями для розробки діагностичних тестів для перманентного моніторингу інфекційної ситуації щодо емерджентних збудників та превентивного встановлення стану санітарного неблагополуччя та контролю біобезпечності тваринницької продукції і зовнішнього середовища.

Список літератури

1. Апатенко В. М., Копієцький В. Ф. Преволюція мікробів як епізоотологічний чинник. *Ветеринарна медицина України*. 2008. № 4. С. 11–12.
2. Завгородній А. І. Наукове забезпечення протитуберкульозних заходів в Україні. *Ветеринарна медицина України*. 2013. № 10. С. 15–16.
3. Калашник М. В. Епізоотологічний моніторинг та удосконалення лабораторної діагностики туберкульозу великої рогатої худоби : автореф. дис. ... канд. вет. наук. Харків, 2017. 20 с.
4. Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. Киев : Эксперт ЛТД, 2005. 362 с.
5. Atlas R. M. Handbook of Microbiological Media. CRC Press, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1201/ebk1439804063>.
6. Bengmark S. Colonic food: pre- and probiotics. *The American Journal of Gastroenterology*. 2000. Vol. 95, No 1. P. S5–S7. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0002-9270\(99\)00807-2](https://doi.org/10.1016/s0002-9270(99)00807-2).
7. Bruerton K. Antibiotic growth promoters — are there alternatives? *Proceedings. Poultry Information Exchange*. 2002. P. 171–176.
8. Evans J. B. Genus *Aerococcus* Willians, Hirsch and Cowan. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 1953.
9. Khan M., Raoult D., Richet H., Lepidi H., La Scola B. Growth-promoting effects of single-dose intragastrically administered probiotics in chickens. *British Poultry Science*. 2007. Vol. 48, No 6. P. 732–735. DOI: <https://doi.org/10.1080/00071660701716222>.
10. Magee J. G., Ward A. C. *Mycobacterium*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* / ed. by M. E. Trujillo et al. UK, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00029>.
11. Martín-Casabona N., Bahrmand A. R., Bennedsen J., Thomsen V. O., Curcio M., Fauville-Dufaux M., Feldman K., Havelkova M., Katila M. L., Köksalan K., Pereira M. F., Rodrigues F., Pfyffer G. E., Portaels F., Urgell J. R., Rüsç-Gerdes S., Tortoli E., Vincent V., Watt B., Spanish Group for Non-Tuberculosis Mycobacteria. Non-tuberculous mycobacteria: patterns of isolation. A multi-country retrospective survey. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 2004. Vol. 8. No 10. P. 1186–1193.

12. Michael D. I. Nontuberculous mycobacteria (ntm). Philadelphia : WB Saunders company, 1998. P. 1513–1528.
13. Murray P. R., Rosenthal K. S., Pfaller M. A. Medical microbiology. Elsevier Mosby, 2005. 963 p.
14. Reber S. O., Siebler P. H., Donner N. C., Morton J. T., Smith D. G., Kopelman J. M., Lowe K. R., Wheeler K. J., Fox J. H., Hassell J. E. Jr, Greenwood B. N., Jansch C., Lechner A., Schmidt D., Uschold-Schmidt N., Fuchs A. M., Langgartner D., Walker F. R., Hale M. W., Lopez Perez G., ... Lowry C. A. Immunization with a heat-killed preparation of the environmental bacterium *Mycobacterium vaccae* promotes stress resilience in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016. Vol. 113, No 22. P. E3130–E3139. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1600324113>.
15. Gotsulya A., Zazharskyi V., Parchenko V., Davydenko P., Kulishenko O., Brytanova T. N'-(2-(5-((Theophylline-7-yl)methyl)-4-ethyl-1, 2, 4-triazole-3-ylthio) acetyl) isonicotinohydrazide As Antitubercular Agents. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*. 2022. Vol. 42, No 3. P. 149–55. DOI: <https://doi.org/10.52794/hujpharm.1011368>.
16. Bihdan O. A., Parchenko V. V., Zazharskyi V., Fotina T., Davydenko P. Influence Of 3-(3-Fluorophenyl)-6-(4-Methoxyphenyl)-7H-[1,2,4]-Triazolo-[3,4-B][1,3,4] Thiadiazine On The Cultural Properties Of Pathogenic *Mycobacterium Bovis*. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2018. Vol. 9. No 6. P. 166–170. URI: <http://dspace.dsau.dp.ua/jspui/handle/123456789/854>.

ECOLOGICAL CULTURES OF *MYCOBACTERIUM VACCAE* AND *AEROCOCCUS VIRIDANS* — BIOMARKERS OF THE SANITARY WELFARE OF THE COW ECOTOP

Zazharskyi V. V., Sosnytska O. O., Biben I. A.

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

*Permanent epidemiological monitoring of biosafety of the external environment, livestock buildings, manure, soil, and milk is an important but methodologically difficult problem of veterinary and sanitary control. Indication of infectious pathogens by classical methods of laboratory analysis can lead to incomplete and untimely diagnostics of zoonotic pathogens, especially in the case of adaptogenic transformation of prokaryotes under the influence of physicochemical and biological pressure of the ecotope of the habitat of the transient microbial association. At the same time, it is known that clinically healthy animals in a stable ecotope of habitat favorable for infectious pathology do not release zoonotic pathogens into the environment and livestock products. Biomarkers of sanitary well-being and the absence of pathogens of zoonosis can be indigenous prokaryotes with probiotic activity, which exist only in the body of clinically healthy animals and are released into the external environment, where they also exhibit antagonistic potential against parasitocenoses of microbial origin. Such prokaryotic biomarkers of sanitary well-being of the habitat of productive animals include *Mycobacterium vaccae* and *Aerococcus viridans*. These are prokaryotes with probiotic potential and antagonistic activity against opportunistic microflora. At the same time, aerococci mainly live in the internal environment of the macroorganism in a state of physiological norm and are released from it during pathophysiological changes, and mycobacteria *vaccae* prevail in the external environment and belong to the saprophytic association of microbionts with transient abilities, that is, they survive in the internal environment of the macroorganism for a limited time. Therefore, these microbionts can be classified as sanitary-indicative and, acting as biomarkers of infection well-being, they provide information on the state of the microbial landscape in the internal environment and external environment of the organism of productive animals*

Keywords: *Mycobacterium vaccae*, *Aerococcus viridans*, microbial biomarkers, sanitary well-being, bioproperties of ecoprokaryotes