

Секция «Новые методы исследований в микробиологии»

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОВРЕМЕННЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДИСБАКТЕРИОЗА

Е.К. Лежнева - 5 курс, биологический факультет

Научный руководитель - к.б.н., доцент Е.В. Глинская

ГОУ ВПО «Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского»

В последние годы пробиотические препараты все чаще применяются при комплексной терапии ряда патологических состояний, протекающих на фоне нарушенной нормальной микрофлоры организма человека. Пробиотики, в состав которых могут входить микробные клетки, их компоненты или метаболиты, оказывают позитивное влияние на физиологические, биохимические и иммунные реакции организма хозяина через стабилизацию и оптимизацию функций его нормальной микрофлоры. Для коррекции дисбактериоза кишечника человека в настоящее время применяют препараты на основе бифидо- и лактобактерий [1, 2].

Целью настоящей работы являлось изучение биологических свойств молочнокислых бактерий пробиотических препаратов, ориентированных на лечение дисбактериоза.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили пробиотические препараты: «Аципол», в состав которого входят лиофилизированные бактерии *Lactobacillus sp.*; «Лактобактерин (сухой)» (*Lactobacillus sp.*); «Линекс» (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*); «Гастрофарм» (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*); «Хилак Форте», содержащий беззародышевые водные субстраты продуктов обмена веществ *E. coli* DSM 4087, *Streptococcus faecalis* DSM 4086, *Lactobacillus acidophilus* DSM 4149, *Lactobacillus helveticus* DSM 4183; «Нарине Форте» (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*). Образцы для исследования доставляли из аптек в герметичных упаковках. Бактериологические посеvy осуществляли общепринятыми микробиологическими методами [3]. Инкубирование проводили в эксикаторах при температуре +37°C. Для выделения и культивирования молочнокислых бактерий использовали элективные питательные среды: Лактобакагар (г. Оболенск); ГРМ-агар с добавлением 5% глюкозы; экспериментальные среды различного состава. Изучение культуральных, морфологических, тинкториальных, биохимических свойств микроорганизмов проводили на первичных посевах и на полученных чистых культурах. Характер колоний изучали макроскопически и под бинокулярной лупой, морфологию бактерий – микроскопически. Антагонистические свойства по отношению к различным тест-культурам (*Escherichia coli* 113-13, *Bacillus subtilis* 6633, *Bacillus cereus* 8035, *Staphylococcus aureus* 209P, *Candida albicans* 184; ГИСК им. Л.А. Тарасевича) определяли методом агаровых блочков. Для этого исследуемую культуру молочнокислых бактерий высевали

сплошным «газоном» на поверхность питательной среды в чашки Петри и инкубировали в течение суток. Затем стерильным сверлом вырезали агаровые блочки с бактериальным газоном и переносили их на поверхность агаризованной среды, предварительно засеянной тест-микроорганизмом. В случае с пробиотиком «Хилак Форте» на сплошном «газоне» с тест-культурами стерильным сверлом вырезали отверстие и в него вносили 0.1 мл исследуемого пробиотика. Затем чашки помещали на 24 ч в термостат при температуре, благоприятной для развития тест-организма. Устойчивость выделенных молочнокислых бактерий к различным по химическому строению группам антибиотиков определяли диффузионным методом. В работе использовали аминогликозиды (стрептомицин, мономицин, неомицин), макролиды (эритромицин, олеандомицин), бета-лактамы (бензилпенициллин, оксациллин, карбенициллин), ароматические антибиотики (левомецитин).

Результаты исследований. В ходе исследований были выделены чистые культуры молочнокислых бактерий. По морфологии они были представлены грамположительными палочками, преимущественно небольших размеров. На плотных питательных средах образовывали круглые непигментированные колонии, небольшого размера, с гладкой поверхностью. Большинство выделенных штаммов сбраживали глюкозу, фруктозу, маннозу, сахарозу, однако не обладали способностью к ферментации арабинозы, маннита и ксилозы. Каталазу и оксидазу не образовывали. На основании изучения морфологических, культуральных и биохимических свойств выделенные штаммы были отнесены к роду *Lactobacillus* [4]. Для дальнейших исследований были отобраны 5 штаммов бактерий из различных пробиотических препаратов.

На следующем этапе работы были изучены антагонистические свойства выделенных молочнокислых бактерий. Результаты исследований позволили выяснить, что тест-культуры *Escherichia coli* 113-13, *Bacillus subtilis* 6633, *Bacillus cereus* 8035, *Staphylococcus aureus* 209P, *Candida albicans* 184 чувствительны к антибактериальным веществам выделенных штаммов молочнокислых бактерий. Максимальное подавляющее действие на тест-культуры оказали штаммы бактерий, изолированные из пробиотиков «Линекс» и «Нарине Форте». Антагонистическое действие указанных культур наблюдалось в отношении бактерий *S. aureus* 209P и *B. subtilis* 6633. Минимальная антагонистическая активность была характерна для штаммов, выделенных из препарата «Аципол». Наиболее чувствительными к действию пробиотических препаратов оказались тест-культуры *S. aureus* 209P и *B. subtilis* 6633. Бактерии *B. cereus* 8035 оказались более устойчивы к антибактериальным веществам исследуемых культур молочнокислых бактерий. Выраженное антагонистическое действие на грибы *C. albicans* 184 проявили водные субстраты продуктов обмена веществ различных микроорганизмов, входящих в состав препарата «Хилак Форте» (табл. 1).

Изучение чувствительности выделенных штаммов молочнокислых бактерий к различным по химическому строению антибиотикам показало, что выраженный антибактериальный эффект проявили антибиотики группы

макролидов и бета-лактамов. К эритромицину оказались чувствительными штаммы *Lactobacillus* sp. 1 и *Lactobacillus* sp. 5, к бензилпенициллину – штаммы *Lactobacillus* sp. 1, *Lactobacillus* sp. 3, *Lactobacillus* sp. 5, к карбенициллину были чувствительны все исследуемые культуры. Однако олеандомицин, относящийся к группе макролидов, не оказывал выраженного бактерицидного действия на исследуемые культуры. К аминогликозидам и ароматическим антибиотикам оказались устойчивы все штаммы молочнокислых бактерий, выделенные из пробиотических препаратов. Сравнивая антибиотикограммы отдельных культур лактобактерий, можно отметить, что штаммы *Lactobacillus* sp. 2 и *Lactobacillus* sp. 4 были чувствительны только к одному из предложенных антибиотиков.

Таблица 1

Антагонистические свойства молочнокислых бактерий, выделенных из пробиотических препаратов (d зоны подавления, мм)

Название пробиотического Препарата	Штаммы	Тест-культуры				
		<i>S. aureus</i> 209P	<i>E. coli</i> 113-13	<i>B. subtilis</i> 6633	<i>B. cereus</i> 8035	<i>C. albicans</i> 184
«Аципол»	<i>Lactobacillus</i> sp. 1	23±1.0	25±2.6	27±1.5	22±0.8	22±0.6
«Лактобактерин»	<i>Lactobacillus</i> sp. 2	25±0,6	25±1.8	26±1.8	23±1.6	21±1.7
«Линекс»	<i>Lactobacillus</i> sp. 3	27±1.3	25±1.2	26±1.0	21±1.7	25±1.6
«Гастрофарм»	<i>Lactobacillus</i> sp. 4	26±1.8	24±1.4	25±1.4	20±2.0	25±1.1
«Нарине Форте»	<i>Lactobacillus</i> sp. 5	27±2.1	20±1.3	26±1.2	25±1.3	25±1.0
«Хилак Форте»	-	25±1.6	23±2.0	21±2.6	27±1.8	26±2.2

Выводы. Таким образом, лактобациллы современных пробиотических препаратов проявляют выраженную антагонистическую активность в отношении тест-микроорганизмов. Особо следует отметить чувствительность микроорганизмов *S. aureus* и *C. albicans*, являющихся в ряде случаев возбудителями дисбактериоза кишечника. Устойчивость к большинству исследуемых антибиотиков проявили штаммы лактобактерий *Lactobacillus* sp. 2 и *Lactobacillus* sp. 4, что позволяет использовать при коррекции дисбактериоза пробиотики «Лактобактерин» и «Гастрофарм» наряду с антибиотиками.

Литература

1. Добрынин А.Ф., Шендеров Б.А. Функциональное питание. – М.: Грантъ, 2002. – 296 с.
2. Глушанова Н.А. Лактобациллы в исследовании и коррекции резидентной микрофлоры человека: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 1999. 29 с.
3. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
4. Краткий определитель бактерий Берги / Под ред. Дж. Хоулта. – М.: Мир, 1980. – 496 с.