

УДК 579.864.1:615.331

АНТАГОНІСТИЧНА ДІЯ КОМПОЗИЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ НА УМОВНО-ПАТОГЕННІ МІКРООРГАНІЗМИ

В. О. ГОЛУБИЦЬКА¹, О. С. СУСЛОВА², Л. С. ЯСТРЕМСЬКА¹

¹Національний авіаційний університет, м. Київ

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, м. Київ

Досліджували антогоністичну активність окремих штамів молочнокислих бактерій і створеного на їх основі бактеріального композиційного препарату до умовно-патогенних мікроорганізмів. Показано, що штами молочнокислих бактерій виявляють різний рівень інгібування умовно-патогенних мікроорганізмів. Антогоністична активність, на досліджувані тест-культури, бактеріального композиційного препарату БК-1 вище, в порівнянні з монокультурами і комерційним композиційним препаратом порівняння – БК-2.

Ключові слова: *молочнокислі бактерії, пробіотики, антагоністична активність, умовно-патогенні мікроорганізми.*

Вступ. Молочнокислі бактерії (МКБ) – основа багатьох пробіотичних препаратів, які широко застосовують у харчовій промисловості [1,2], медицині, ветеринарії [4,5] та сільському господарстві [4–7].

Однією з головних вимог до пробіотичних штамів є антагоністична активність щодо патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів (УПМ) [8]. Антагоністична дія молочнокислих бактерій давно привертає увагу дослідників і на сьогодні описана в літературі досить широко [2,3,9–11]. Механізми антагоністичної дії обумовлюються утворенням органічних кислот (молочної, оцтової), пероксиду водню та антибіотичних речовин, які можуть спричиняти

бактеріцидну та бактеріостатичну дію на ріст та розвиток сторонньої мікрофлори. Здатність молочнокислих бактерій пригнічувати ріст широкого спектру мікроорганізмів відіграє важливу роль у формуванні мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту людини та тварин [3,12,13]. Розробка засобів терапії на базі ефективних мікроорганізмів продуцентів пробіотичних речовин – важливий елемент біотехнології. На сьогодні існує потреба у створенні нових пробіотиків, що пояснюється, зокрема, селекцією штамів – збудників захворювань, «нечутливих» до дії пробіотичних мікроорганізмів [4,7].

Перспективним напрямком удосконалення пробіотиків є розробка комплексних препаратів, до складу яких входять різні види бактеріальних культур, які взаємодоповнюють один одного за специфічною активністю та впливом на умовно-патогенні мікроорганізми [5,6].

Метою роботи було дослідження антагоністичної активності МКБ та створеного на їх основі комплексного бактеріального композиційного препарату.

Матеріали та методи досліджень. Об'єктом дослідження були 7 штамів молочнокислих бактерій, що були отримані з Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАНУ: *Lactobacillus plantarum* ІМВ 1/12, *L. plantarum* ІМВ 308, *Lactococcus lactis* ІМВ 1060, *L. lactis* ІМВ 634, *Leuconostoc* sp. ІМВ 660. Створений на їх основі бактеріальний композиційний препарат БК-1, в якому п'ять штамів-симбіонтів містились у співвідношенні 1 : 1 : 1 : 1 : 1; комерційний пробіотичний бактеріальний композиційний препарат порівняння БК-2 (Канадський йогурт), що у своєму складі містить: *Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* у співвідношенні 1,8 : 1 : 2 : 2.

Антагоністичну дію МКБ вивчали на 7 штамів умовно-патогенних мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* УКМ В-904, *Staphylococcus epidermidis* УКМ В-819, *Bacillus cereus* УКМ В-908, *Candida albicans* УКМ 1819, *Escherichia coli* УКМ В-916, *Proteus vulgaris* УКМ В-905, *Pseudomonas*

aeruginosa УКМ В-907, що отримані з Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Штами МКБ культивували на рідкому та агаризованому середовищі MRS [14] за температури 37 °С. Умовно-патогенні тест-культури – на рідкому та агаризованому середовищі NB (Nutrient Broth, HIMEDIA) за температури 37°С.

Дослідження антагоністичної активності проводили методом відстроченого антагонізму за методикою перпендикулярних штрихів [15]. Для дослідження антагоністичної активності всі штами попередньо культивували 1 добу в відповідному рідкому середовищі – MRS або NB. Облік результатів проводили через 24 години. Ступінь чутливості тест-культур оцінювали відповідно до розміру зон пригнічення їх росту. Штами МКБ вважали: неактивними при утворенні зони затримки росту 0–5 мм (–), 6–10 мм (+) – помірно активними, 11–15 мм (++) – активними, більше 16 мм (+++) – високоактивними. Відповідно антагоністичну активність МКБ оцінювали як «відсутню», «слабку», «помірну» та «сильну». Повторюваність дослідів – трикратна. Контролями росту тест-культур були їх паралельні посіви на чашки Петрі з тим же середовищем, але без культур-антагоністів.

Отримані результати оброблено за *t*-критерієм Фішера-Стьюдента й представлено у вигляді середньої арифметичної та її похибки ($M \pm$). Похибка вимірювання антагоністичної активності молочнокислих бактерій становила 0.5 мм. Статистичну обробку даних проводили, використовуючи пакети програм «Excel»

Результати та їх обговорення. Виявлено, що антагоністична активність монокультур МКБ та їх композицій мають різний ступінь антагоністичної активності щодо умовно-патогенних мікроорганізмів (Табл. 1).

Так, чутливими до дії усіх МКБ виявились штами *Proteus vulgaris* УКМ В-905 та *Pseudomonas aeruginosa* УКМ В-907. Зона затримки росту становила від 4 до 9 мм при використанні монокультур МКБ. Бактеріальні композиції БК-1 та БК-2 проявляли сильнішу антагоністичну активність до цих тест-культур (13;19; 17; 13; мм, відповідно). Інші тест-культури, наприклад,

C.albicans УКМ 1819 та *E.coli* УКМ В-916 були найбільш стійкими до антагоністичної дії монокультур МКБ – зони затримки росту або незначні, або відсутні.

Таблиця 1

**Антагоністична активність штамів МКБ та композиційних препаратів
БК-1 та БК-2**

Штами молочнокислих бактерій	Значення зон затримки росту тест-культур, мм						
	<i>B. cereus</i> УКМ В-908	<i>S. aureus</i> УКМ В-904	<i>C. albicans</i> УКМ 1819	<i>E. coli</i> УКМ В-916	<i>S. epidermidis</i> УКМ В-819	<i>P. vulgaris</i> УКМ В-905	<i>P. aeruginosa</i> УКМ В-907
<i>Lactobacillus plantarum</i> ІМВ- 1/12	4±0,73	5±0,90	-	3±0,93	-	6±0,79	7±0,77
<i>Lactobacillus plantarum</i> ІМВ-308	5±0,90	3±0,93	-	-	5±0,90	8±0,76	8±0,76
<i>Lactococcus lactis</i> ІМВ- 1060	-	-	-	-	7±0,77	4±0,73	6±0,79
<i>Lactococcus lactis</i> ІМВ- 634	6±0,79	8±0,76	5±0,90	6±0,79	6±0,79	7±0,77	5±0,90
<i>Leuconostoc</i> sp. ІМВ 660	4±0,73	-	7±0,77	4±0,73	-	8±0,76	9±0,84
БК -1	11±0,90	10±0,84	7±0,77	10±0,84	11±0,90	13±1,20	19±1,58
БК -2	15±1,10	9±0,84	7±0,77	7±0,77	13±1,20	17±0,21	13±1,20

Слабко пригнічували ріст *Bacillus cereus* УКМ В-908 окремі штами МКБ, але бактеріальні композиції більш активно інгібували цю тест-культуру (11; 15 мм). Штам *Lactococcus lactis* ІМВ-1060 мав дуже низький рівень антагоністичної активності до умовно-патогених мікроорганізмів – не інгібував ріст чотирьох з семи досліджених тест-культур. Водночас, *L. lactis* ІМВ 634 мав помірну антагоністичну активність до всіх тест-культур (табл. 1, рис. 1).

У всіх варіантах експерименту ступінь антагоністичної активності композиційних препаратів переважав цей показник у монокультур (табл.1, рис. 1).

Так, створений композиційний препарат БК-1 та комерційний пробіотичний композиційний препарат порівняння БК-2 проявляють вищу антагоністичну активність відносно умовно-патогених тест-культур (рис. 2).

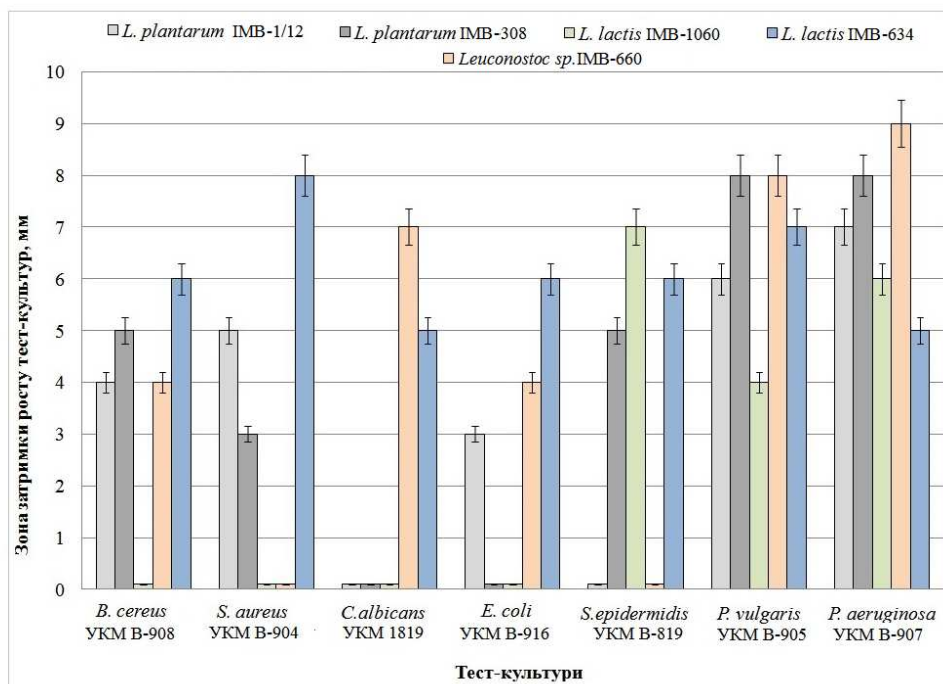


Рис. 1. Антагоністична активність штамів молочнокислих бактерій до умовно-патогенних мікроорганізмів

Схожі дані отримували інші автори при дослідженні антагоністичної активності пробіотичних препаратів [13]. Композиційний препарат БК-1 має вищу антагоністичну активність порівняно з комерційним пробіотичним композиційним препаратом порівняння БК-2. Найбільші зони затримки росту для БК-1 становили від 10 до 19 мм.

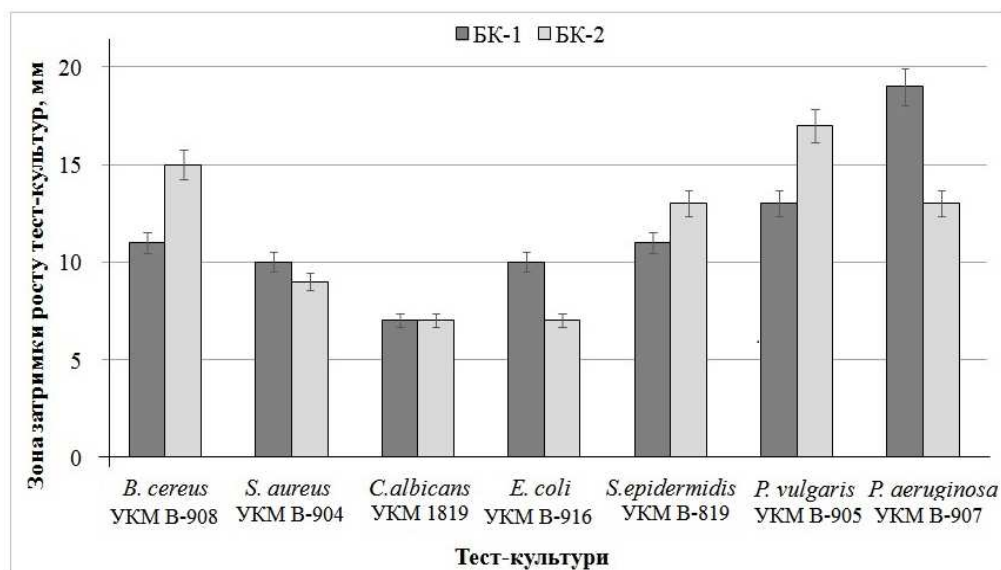


Рис. 2. Антагоністична активність до тест-культур композиційного препарату БК-1 та комерційного препарату порівняння БК-2

ВИСНОВКИ

Отже, в результаті проведених досліджень було показано, що монокультури МКБ не мали високої антагоністичної активності до умовно-патогенних мікроорганізмів на відміну від композиційних препаратів БК-1 та БК-2.

Найбільші зони затримки росту (від 10 до 19 мм) на твердому середовищі встановлено для композиційного препарату БК-1 створеного на основі п'яти штамів молочнокислих бактерій, що взяті у співвідношенні 1 : 1 : 1 : 1 : 1. Композиційний препарат БК-1 у подальшому може бути використаний для виробництва пробіотиків.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кигель Н. Ф. Новый бактериальный препарат «АФ» на основе молочнокислых бактерий и его биологические свойства / Н. Ф. Кигель // Мікробіологічний журнал. – 2000. – № 3. – С. 49–55.
2. Боднарчук О.В. Дослідження антагоністичної активності заквасок для кисловершкового масла/ О.В. Боднарчук // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – 2012. – Т.14, №2 (52). – Ч.3. – С. 189–194.
3. Борщ С.К. Вивчення на прикладі *E.coli* шт. М-17, введеної в препарат біфікол, закономірностей прояву антагоністичних властивостей мікроорганізмів, що належать до різних таксономічних одиниць, є збудниками дисбактеріозу кишечника, гнійно-запальних процесів та пробіотичними штамми / Борщ С.К., Середюк Н.М., Куцик Р.В. // Галиц. лікар. вістник. – 2004. – № 4. – С. 9–11.
4. Методичні рекомендації з конструювання пробіотиків та застосування їх у практиці ветеринарної медицини / [Скибіцький В. Г., Козловська Г. В., Ібатулліна Ф. Ж. та ін.] – К.: ЗАТ «Нічлава», 2013. – 39 с.
5. Стегній Б.Т. Пробиотики у тваринництві / Стегній Б.Т., Гужвинська С.О. // Вісник аграрної науки. – 2005. – № 2. – С. 26–29.

6. Гужвинська С.О. Відбір молочнокислих бактерій для виготовлення пробіотичних препаратів / С.О. Гужвинська // Ветеринарна медицина. – 2014. – В. 99. – С. 196–201
7. Акименко Л. І. Пробиотики у ветеринарній медицині / Л. І. Акименко // Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 5. – С. 37–38.
8. Woodmansey E.J. Intestinal bacteria and ageing / E.J. Woodmansey // J. Applied Microbiology. – 2007. – V. 120. – P. 1178–1186.
9. Василюк О.М. Антагоністичні властивості штамів *Lactobacillus plantarum*, ізольованих із традиційних ферментованих продуктів України / Василюк О.М., Коваленко Н.К., Гармашева І.Л. // Мікробіол. журнал. – 2014. – Т.76, №3. – С. 24–31.
10. Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product / [Mezaini A., Chihib N.E., Bouras A.D. et al.] // J. Environ. Public Health. – 2009. – P. 678495-678496.
11. Мерліч А.Г. Антагоністична активність бактерій *Lactobacillus plantarum*, виділених з рослинних джерел України та Франції, проти фітопатогенних бактерій / А.Г. Мерліч, Н.В. Ліманська // Мікробіологія і біотехнологія. – 2016. – №4. – С. 71–85 DOI:10.18524/2307-4663.2016.4(36).86773
12. Похилько Ю. М. Вплив середовища культивування на антагоністичну активність молочнокислих бактерій / Ю. М. Похилько, Н. О. Кравченко// Сільськогосподарська мікробіологія. – 2016. – Вип. 24. – С. 64–72.
13. Ефективні біологічні препарати при дисбактеріозі та ешерихіозі / [Литвин В. П., Поліщук В. В., Ляпунов М. В., Амрош С. С.] // Науковий вісник Національного аграрного університету. – 2000. – Вип. 28. – С. 129–133.
14. De Man J.D. Medium for the cultivation of lactobacilli / De Man J.D., Rogosa M., Sharpe M.E. // J. Appl. Bacteriol. – 1960. – V. 23. – P. 130–135.

15. Егоров Н. С. Микробы антогонисты и биологические методы определения антагонистической активности / Н. С. Егоров. – М.: Высшая школа, 1975. – 209 с.

АНТАГОНИСТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМПОЗИЦИОННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ НА УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

В. А. ГОЛУБИЦКАЯ¹, А. С. СУСЛОВА², Л. С. ЯСТРЕМСКАЯ¹

¹Национальный авиационный университет, г. Киев

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ, г. Киев

Исследовали антогонистичну активность отдельных штаммов молочнокислых бактерий и созданного на их основе бактериального композиционного препарата к условно-патогенным микроорганизмам. Показано, что штаммы молочнокислых бактерий проявляют разный уровень ингибирования условно-патогенных микроорганизмов. Антогонистическая активность, на исследуемые тест-культуры, бактериального композиционного препарата БК-1 выше, по сравнению с монокультурами и коммерческим композиционным препаратом сравнения – БК-2.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, пробиотики, антагонистическая активность, условно-патогенные микроорганизмы.

ANTAGONISTIC ACTION OF THE COMPOSITE PREPARATION ON THE BASIS OF LACTIC ACID BACTERIA ON CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROORGANISMS

V. A. HOLUBITSKA¹, A. S. SUSLOVA², L. S. YASTREMSKA¹

¹National Aviation University, Kiev

²Institute of Microbiology and Virology of D.K. Zabolotny National Academy

of Sciences of Ukraine, Kiev

The antagonistic activity of individual strains of lactic acid bacteria and the bacterial composite preparation created on their basis to conditionally pathogenic microorganisms was studied. It has been shown that the legs of lactic acid bacteria show different levels of inhibition of conditionally pathogenic microorganisms. The antagonistic activity, on the test cultures tested, of the bacterial composite preparation BK-1 is higher, compared to monocultures and a commercial composite comparator – BK-2.

Key words: lactic acid bacteria, probiotics, antagonistic activity, conditionally pathogenic microorganisms.