

**РЕГУЛЯЦИЯ ФАКТОРОВ ПЕРСИСТЕНЦИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ
МИКРООРГАНИЗМОВ ПРОБИОТИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ РОДА
LACTOBACILLUS SP.**

О.А. КАПУСТИНА, А.Ю. ГАРАНКИНА

КАПУСТИНА Ольга Александровна – научный сотрудник, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН

ГАРАНКИНА Анна Юрьевна - аспирант, ФГБОУ ВПО «Оренбургский ГАУ»

Адрес: ул. Челюскинцев, 18, г. Оренбург, РФ, 460014. Тел. 8(3532) 77 44 63, 8(3532) 99-97-13.

E-mail: olga25mikro@mail.ru

Ключевые слова: пробиотики, условно-патогенные микроорганизмы, бактерии рода *Lactobacillus sp.*, факторы персистенции.

Изучено влияние бактерий рода *Lactobacillus sp.*, входящих в состав ветеринарных пробиотиков, на персистентный потенциал условно-патогенных микроорганизмов, выделенных при дисбиозе кишечника у животных. Библ. 10.

Среди многочисленных ветеринарных пробиотиков особый интерес представляют пробиотики из живых культур бактерий рода *Lactobacillus sp.* В настоящий момент накоплен большой фактический материал по эффективности использования пробиотиков в борьбе с инфекционными и неинфекционными заболеваниями [5,7], коррекции дисбиотических состояний [9], повышении продуктивности сельскохозяйственных животных [4,10], изучены многие биологические свойства и раскрыты механизмы антагонистической активности бактерий рода *Lactobacillus sp.* [3,6] в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Вместе с тем, практически отсутствуют данные по влиянию пробиотических штаммов *Lactobacillus sp.* на персистентный потенциал условно-патогенных микроорганизмов кишечника животных.

Цель исследования: изучение влияния бактерий рода *Lactobacillus sp.*, входящих в состав ветеринарных пробиотиков, на персистентный потенциал условно-патогенных микроорганизмов, выделенных при дисбиозе кишечника у животных.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования послужили 24 штамма условно-патогенных микроорганизмов: лактозонегативные гемолитические *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, выделенные из фекалий клинически здоровых поросят 10-30 дневного возраста, а также штаммы бактерий рода *Lactobacillus sp.*, выделенные из ветеринарных пробиотиков Лактоферон (*Lactobacillus acidophilus*), Лактоамиловорин (*Lactobacillus amylovorus*) и Лактобифадол (*Lactobacillus acidophilus*). Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили общепринятыми методами на основании морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств [16]. Факторы персистенции (антилизоцимная активность - АЛА, антилактоферриновая активность - АЛФА) условно-патогенных микроорганизмов изучали фотонепелометрическим [2] и иммуноферментным методами [3] до и после совместного культивирования с бактериями рода *Lactobacillus* в жидкой питательной среде [8]. Статистическую обработку осуществляли с использованием параметрических методов. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

Результаты исследования и выводы. Полученные результаты показали, что все изученные штаммы условно-патогенных* микроорганизмов характеризовались способностью к инаktivации как лизоцима, так и лактоферрина. Максимальное значение АЛФА установлено у *E. coli* (2391,0±368 нг/мл), у золотистых стафилококков среднее значение признака составляло 1908,0±22,9 нг/мл, у *K. pneumoniae* 1153,7±22,86 нг/мл и *C. albicans* 385,0±54,3 нг/мл. Средние значения АЛА у штаммов *E. coli*, *S. aureus*, *K.*

* Выделенных микроорганизмов мы продолжаем относить к условно-патогенным на основании идентификации их видовой принадлежности, без установления степени их патогенности. (Прим. авторов)

pneumoniae, *C. albicans* были равны $0,22 \pm 0,06$ мкг/мл, $0,44 \pm 0,02$ мкг/мл $0,65 \pm 0,08$ мкг/мл, $0,68 \pm 0,05$ мкг/мл соответственно.

При изучении влияния пробиотических штаммов бактерий рода *Lactobacillus* на персистентные свойства условно-патогенных микроорганизмов было выявлено разнонаправленное воздействие на АЛА: снижение способности к инактивации лактоферрина у всех изученных штаммов условно-патогенных микроорганизмов, а также ингибирование роста стафилококков под воздействием *L. acidophilus*, выделенной из препарата Лактобифадол.

Антилактоферриновая активность *E. coli* и *S. aureus*, после их сокультивирования со штаммом *L. amylovorum*, снизилась до 0 нг/мл. Отмечено также снижение данного признака под воздействием *L. acidophilus* из препарата Лактоферон у *E. coli* - на 92,4% от исходного уровня ($182,5 \pm 8,30$ нг/мл), у *S. aureus* - на 96% ($75,0 \pm 4,68$ нг/мл), а из препарата Лактобифадол - у *E. coli* - на 97% ($67,7 \pm 6,82$ нг/мл).

Грибы рода *Candida sp.* достоверно не изменяли АЛФА под действием *L. amylovorum* ($371,7 \pm 49,42$ нг/мл), в тоже время у них отмечено снижение данного свойства при воздействии штамма *L. acidophilus* из препарата Лактобифадол на 92,7% ($28,0 \pm 4,52$ нг/мл) и при воздействии штамма *L. acidophilus* из препарата Лактоферон - на 60,8% ($151,7 \pm 22,79$ нг/мл).

Максимальному снижению АЛФА у бактерий рода *Klebsiella* (до $8,0 \pm 0,68$ нг/мл) способствовало влияние на них штамма *L. acidophilus* из препарата Лактобифадол. Штамм *L. acidophilus* из препарата Лактоферон снижал активность этого свойства на 78% ($250,0 \pm 9,72$ нг/мл), а *L. amylovorum* - на 92,8% ($85,0 \pm 7,43$ нг/мл).

Изучение влияния штаммов лактобацилл, выделенных из пробиотиков, на АЛА условно-патогенных микроорганизмов позволило установить, что все использованные в эксперименте лактобациллы стимулировали способность инактивировать лизоцим у *E. coli*, при этом значение признака увеличивалось в ряду: Лактоамиловорин ($0,44 \pm 0,054$ мкг/мл), Лактоферон ($0,64 \pm 0,041$ мкг/мл), Лактобифадол ($0,69 \pm 0,077$ мкг/мл). *L. acidophilus* из препарата Лактоферон и Лактобифадол повышали также АЛА бактерий рода *Klebsiella*, увеличивая значение признака до $0,92 \pm 0,079$ мкг/мл и $0,84 \pm 0,058$ мкг/мл соответственно, тогда как *L. amylovorum* достоверного изменения способности к инактивации лизоцима у данных микроорганизмов не вызывал ($0,61 \pm 0,071$ мкг/мл). Достоверно не изменялась и АЛА *S. aureus*: после воздействия штамма *L. acidophilus* из препарата Лактоферон и *L. amylovorum* значения признака составляли $0,407 \pm 0,035$ мкг/мл и $0,38 \pm 0,09$ мкг/мл соответственно. Штамм *L. acidophilus* из препарата Лактобифадол достоверно не изменял также антилизоцимную активность грибов рода *Candida* ($0,67 \pm 0,087$ мкг/мл), тогда как штамм *L. amylovorum* снижал признак на 57,1% ($0,3 \pm 0,034$ мкг/мл), а штамм *L. acidophilus* из препарата Лактоферон - на 14,3% ($0,56 \pm 0,047$ мкг/мл).

Таким образом, установлено, что различные пробиотики по-разному влияют на персистентные признаки условно-патогенной микрофлоры, что необходимо учитывать при отборе штаммов, используемых для создания биопрепаратов.

Наиболее эффективным среди изученных препаратов оказался Лактоамиловарин, снижающий АЛФА и АЛА у большинства изученных нами видов микроорганизмов.

Полученные данные могут быть использованы в ветеринарии при коррекции дисбиотических нарушений с использованием наиболее эффективных пробиотиков.

ЛИТЕРАТУРА. 1. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина: Екатеринбург: УрО РАН, 1999. 365 с. 2. Валышева И.В. Антилактоферриновая активность микроорганизмов. Автореф. дис. канд. биол. наук. Оренбург, 2005. 3. Ермоленко Е.И., Ждан-Пушкина С.Х., Суворов А.Н. Взаимодействие *C. albicans* и *Lactobacillus plantarum in vitro*. // Проблемы медицинской микологии. 2004. №6. С.49-54. 4. Клычкова М.В. Влияние пробиотика лактоамиловарина на рост и развитие утят-бройлеров. // Известия ОГАУ. 2004. № 3. С. 151 – 152. 5. Малик Е.В. Пробиотики в профилактике желудочно-кишечных болезней свиней. // Главный зоотехник. 2007. №11. С 48 - 51. 6. Новик Г. И., Мелентьев Г.И., Самарцев А.А. Биологическая активность микроорганизмов-пробиотиков. // Микробиология. 2006. № 2. С 187-194. 7. Овод А.С. Профилактика диарей новорожденных телят пробиотиками. // Ветеринария. 2007. № 2. С. 6-7. 8. Определитель бактерий Берджи. В 2-х томах. Т.1. М.: Мир, 1997. 9. Сидоров М.А., Субботин В.В., Данилевская Н.В. Нормальная микрофлора животных и её коррекция пробиотиками. // Ветеринария. 2000. № 11. С. 17 – 22. 10. Ширяева О.Ю. Влияние препаратов йода и лактоамиловарина на естественную резистентность и продуктивность кур-несушек. Автореф. дис. канд. биол. наук. Оренбург. 2007.

UDK 579.62:26

REGULATION PERSISTENT POTENTIAL OF OPPORTUNISTIC PATHOGENS BY LACTOBACILLUS SP., ISOLATED IN VETERINARY PROBIOTICS

KAPUSTINA Olga Aleksandrovna - research collaborator, Research Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis

Adress: 11, st. Pioneer, Orenburg, Russia, 460000

Tel. (3532) 77 44 63 E-mail: olga25mikro@mail.ru

GARANKINA Anna Yurevna - graduate student, Orenburg State Agricultural University.

Adress: 18, st. Chelyuskintsev, Orenburg, Russia, 460014

Tel. (3532) 99-97-13

Key words: probiotics, opportunistic microorganisms, *Lactobacillus* sp., factors of persistence.

Summary. The influence of *Lactobacillus* sp., isolated of the veterinary probiotics, by persistent potential of opportunistic microorganisms, isolated by animals with intestinal dysbiosis, was investigated. It was found that *Lactobacillus* sp., isolated from probiotics, have different effects on the persistent signs of opportunistic microorganisms. The most effective among all selected probiotics were Laktoamilovorin, reducing the ALfA and the ALA in most species studied microorganisms.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES. 1. Bukharin O.V. Persistencia patogennih bacteria. M.: Medicine: Ekaterinburg: UB RAS, 1999. 365. 2. Valysheva I.V. Antilaktoferrinovaya aktivnosti mikroorganizmov: avtoref. diss. candidate biol. nauk. Orenburg, 2005. 3. Ermolenko E.I. Zhdan-Pushkin S.H., Suvorov A.N. Vzaimodeistvie *C. albicans* i *Lactobacillus plantarum* in vitro. // Problemi medicinskoj mycologii. 2004. № 6. P.49-54. 4. Klychkov M.V. Vliyanie probiotica laktoamilovarin na rost i razvitie growth utiat - broilerov. // Izvestia OGAU. 2004. № 3. P. 151-152. 5. Malik E.V. Probiotiki v profilaktike geludochno-kishechnih boleznei svinei. // Glavnyiv zootechnik. 2007. № 11. P. 48 - 51. 6. Novik G.I. Melent'ev G.I. Samartsev A.A. Biologicheskaja aktivnosti probioticheskikh mikroorganizmov. // Microbiologiya. 2006. № 2. P. 187-194. 7. Ovod A.S. Profilaktika diarrhea teliat probioticami. // Veterinaria Medicina. 2007. № 2. P. 6-7. 8. Opredelitel bakterii Bergey. 2 toma. V.1. M.: Mir, 1997. 9. Sidorov M.A., Subbotin V.V., Danilevskaya N.V. Normalnaia microflora givotnih i korrekcia probiotikami // Veterinaria. 2000. № 11. P. 17 - 22. 10. Shiryayev O.Yu. Vlianie ioda i laktoamilovorina na estestvennyu resistantnosti i and productivnosti kur nesushek: avtoref. diss. candidate biol. nauk.. Orenburg. 2007.