

УДК 57

DOI 10.21661/r-465286

*А.М. Кушманова, А.Б. Абжалелов***РАЗРАБОТКА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ
МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИИ И РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ**

Аннотация: мировой рынок биопрепаратов активно развивается, так как налажено производство множества пробиотических препаратов на основе молочнокислых бактерий. Используются пробиотические препараты в медицине и пищевой отрасли в качестве лекарственных средств либо биологически активных добавок. Как известно, механизмы развития дисбиотических состояний связаны не только с угнетением резидентной микрофлоры и заселением биотопа открытой слизистой поверхности человеческого организма условно-патогенными микроорганизмами, но и сопровождаются морфофункциональными нарушениями слизистой оболочки. Молочнокислые бактерии в составе пробиотических препаратов противодействуют заселению биотопа условно-патогенными микроорганизмами, но не улучшают морфо-функциональное состояние слизистой оболочки, точнее не оказывают противовоспалительное и цитопротекторное действие. Но такими свойствами обладают многие фитопрепараты, экстракты лекарственных растений, в том числе и экстракт тополя бальзамического. Поэтому разработка биопрепарата на основе пробиотически активных микроорганизмов и растительных экстрактов, характеризующихся противовоспалительным и цитопротекторным действием является особо актуальным.

Ключевые слова: молочнокислые бактерий, растительные экстракты, биопленка, пробиотики.

*А.М. Kushmanova, A.B. Abzhalelov***THE DEVELOPMENT OF PROBIOTIC PREPARATIONS BASED
ON LACTIC ACID BACTERIA AND PLANT RESIDUES**

Abstract: *abstract: the world market of biopreparations is actively developing, as the production of a lot of probiotic preparations based on lactic acid bacteria is established. Probiotic preparations are used in medicine and food industry as medicines or biologically active additives. At the same time, the mechanisms for the development of dysbiotic conditions are associated not only with the inhibition of the resident microflora and the populating of the biotope of the open mucosa of the human body by conditionally pathogenic microorganisms, however also accompanied by morpho-functional disorders of the mucosa. Lactic acid bacteria in the composition of probiotic preparations counteract the settling of the biotope by conditionally pathogenic microorganisms, however they do not improve the morpho-functional state of the mucosa, or, more precisely, do not exert an anti-inflammatory and cytoprotective effect. However such properties are possessed by many phytopreparations, extracts of medicinal plants, including the balsamic poplar extract. Therefore, the development of a biopreparation based on probiotic active microorganisms and plant extracts, characterized by anti-inflammatory and cytoprotective action is particularly relevant.*

Keywords: *lactic acid bacteria, plant extracts, biofilm, probiotics.*

Скрининг и разработка пробиотических препаратов на основе молочнокислых бактерии, характеризующихся бактериоцин продукцией, обладающих био-пленкообразующим и антиоксидантным свойствами является актуальным направлением научных исследований в области биотехнологии микроорганизмов. Введение в состав микробного препарата фитоэкстракта на основе тополя бальзамического, обладающего противовоспалительным и цитопротекторным действием существенно повышает практическую значимость исследования.

Значимая роль пробиотиков в обеспечении противoinфекционной защиты организма, коррекции дисбиотических нарушений кишечника общеизвестна. Еще более полезны для коррекции нарушенной микроэкологии кишечного либо иного биотопа открытых слизистых поверхностей являются биопрепараты, сочетающие в себе пробиотически активные микроорганизмы и экстракты растительного происхождения. Они стимулируют рост и физиологическую

активность пробиотических микроорганизмов, а также улучшают морфофункциональное состояние слизистой оболочки кишечного биотопа.

Особенностью комплексных препаратов, которые сочетают в себе биологически активные соединения как микробного, так и растительного происхождения является проявление синергического действия, которое достигается за счет более активного размножения пробиотических микроорганизмов в биотопе, большей адгезии на поверхности слизистой кишечника и соответственно, их более эффективному антиинфекционному действию.

Антагонистическая активность микроорганизмов для пробиотиков, в частности лактобацилл многократно исследована самыми разными методами с использованием различных тест-культур (условнопатогенные грамотрицательные и грампозитивные бактерии и кокки). Большинство молочнокислых бактерий этой таксономической группы обладают выраженным антагонизмом к той или иной группе. Микроорганизмы, которые используют в качестве пробиотиков, должны иметь высокую скорость роста, колонизационный потенциал (устойчивость к низким рН, желчным кислотам, антимикробным субстанциям) в пищевом тракте, стабильные характеристики клинической и технологической эффективности, четкую физиолого-биохимическую и генетическую маркировку, быть совместимыми с другими микроорганизмами, присутствующими в желудочно-кишечном тракте и не проявлять побочных эффектов при длительном использовании. Основные процессы, которые обеспечивают положительный эффект пробиотиков на основе живых микроорганизмов на организм человека через нормализацию его микробной экологии, приведены ниже:

– основные функции: ингибирование роста потенциально вредных микроорганизмов в результате продукции антимикробных субстанций, активации иммунокомпетентных клеток; стимуляция роста представителей флоры в результате продукции витаминов и других ростостимулирующих факторов, нейтрализация токсинов и нормализация рН; изменение микробного метаболизма, проявляющееся в повышении или снижении активности ферментов [1].

Как известно, микроорганизмы рода *Lactobacillus* широко распространены в природе, а некоторые виды являются важнейшими представителями микробиоты организма человека [2]. Главным конечным продуктом метаболизма лактобацилл является D- и L-молочная кислота. У гомоферментативных лактобацилл лактат составляет 90% всех продуктов брожения. Благодаря продукции органических кислот, перекиси водорода и бактериоцинов многие штаммы лактобацилл проявляют выраженную антагонистическую активность в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Кроме того молочнокислые бактерии усиливают гидролиз белков, сбраживают углеводы, омыляют жиры, препятствуют микробному декарбоксилированию пищевого гистидина и повышению количества гистамина [3]. Среди адаптационных характеристик лактобацилл, наряду с устойчивостью к кислой среде желудка, к высокой концентрации желчных кислот, не менее важны адгезивная активность и способность формировать биопленку на поверхности слизистой оболочки. Вместе с тем актуальны молекулярно-биологические исследования таких биологических свойств лактобацилл как антиоксидантная и иммуномодулирующая активность, и, конечно же, биопленкообразующая способность. В совокупности, вышеперечисленные свойства являются основными механизмами действия лактобацилл в ингибировании роста и размножения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, в восстановлении микробиоценоза в кишечном биотопе путем микроб – микробного взаимодействия, в укреплении барьерной функции кишечных эпителиоцитов и модуляции иммунного ответа [4–8].

Актуальны исследования, касающиеся антиоксидантных характеристик среди различных родов, видов и штаммов молочнокислых бактерий. В последние годы отдельными исследованиями показана способность различных штаммов молочнокислых бактерий подавлять процессы перекисного окисления липидов микросом и липидов низкой плотности, захватывать свободные радикалы, усиливать экспрессию генов ферментов антиоксидантной защиты в различных тканях и повышать их антиоксидантную емкость.

Микроорганизмы, населяющие почву, растительный покров, воду, высеваемые из воздуха, вегетирующие на слизистой открытых полостей живых организмов достаточно стабильно сохраняют физиологическую активность и популяционный уровень благодаря способности к адгезии и формированию биопленки на поверхности неорганической либо органической подложки (микрочастицы почвы, воды, эпителиоциты и др.). Биоплёнка рассматривается как пространственная структура и оптимальная метаболическая среда для населяющих ее микроорганизмов [9–13]. Ее формирование связано, наряду с полимерными компонентами (кишечный муцин и др.), выделяемыми эпителиоцитами макроорганизма с адгезивной и

Полисахаридпродуцирующей способностью микроорганизмов.

Специфическая адгезия к эпителиоцитам связана с рецепцией поверхностных структур микробной и тканевой клеток. В составе полимерной структуры биопленки выявлены такие экзополисахариды микроорганизмов как декстран, целлюлоза, гиалуроновая кислота, а также протеогликаны, гликопротеиды. Полимерный матрикс является не только питательной средой, но и защитной структурой для сообщества микроорганизмов, обеспечивающий им физиологическую и функциональную стабильность [14]. К обязательным структурным компонентам полимерного матрикса биопленки относятся пронизывающие ее многочисленные поры, обеспечивающие эффективный транспорт компонентов микробного метаболизма

Неспецифическая адгезия микроорганизмов к поверхности осуществляется за счет действия электростатических и гидрофобных сил, сил Ван дер Ваальса. Биопленка в кишечном биотопе состоит из микробных экзополисахаридов, колоний микроорганизмов и тканевого муцина. Адгезия микроорганизмов к поверхности эпителиоцитов обуславливается специфическим взаимодействием поверхностных структур микробной клетки (белки-адгезины, ворсинки) с определенными рецепторными структурами на поверхности кишечных эпителиоцитов.

Установлено, что многие виды МКБ, относящиеся к родам *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Carynobacterium* и т. д. способны

продуцировать вещества с антимикробной активностью, такие как бактериоцины. Изначально считалось, что бактериоцины, вырабатываемые различными штаммами обладают активностью только против других близкородственных видов МКБ, но дальнейшие исследования показали их антибактериальную активность против более филогенетически отдаленных грампозитивных и иногда против грамотрицательных бактерий. Так, из культуры *Lactobacillus salivarius* NRRL В-30514 методами ионно-обменной и гидрофобно-взаимодействующей хроматографии выделен бактериоцин OR-7, проявляющий активность к грамотрицательным бактериям (Stern N. J. et al., 2006). В целом, спектр ингибирования некоторых бактериоцинов включает медицински-значимые микроорганизмы (*Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* и др.), вызывающие порчу продуктов и/или распространяющиеся через пищу.

Молочнокислые бактерии образуют широкий спектр бактериоцинов: курвацин, диацетин, лактококцин, ацидоцин, лактоцин, плантацин, плантарицин и др. Бактериоцины из молочнокислых бактерий разделяют на две группы. Представители первой группы характеризуются узким спектром антибактериального действия – вызывают гибель организмов, близких к организму-продуценту. В эту группу входят лактоцин В и F-27, амиловорин, педиоцин N5P, термофилин А, курвацин А, амиловорин L471, энтерококцин. Бактериоцины, относящиеся ко второй группе, ингибируют рост многих видов грамположительных микроорганизмов, в том числе *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium sporogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pediococcus acidilactici*, *Bacillus spp.*, *Enterococcus faecalis* [15]. Перечисленные бактерии вызывают порчу пищевых продуктов, среди них есть и патогенные виды. К бактериоцинам второй группы относятся: педиоцин А, ацидоцин В, диацетин В-1, курвацин FS47, лактицин 3147, плантарицин С, энтерококцины, саливарцин, *низин*, саркацин 674, мутацин. Показано, что большая часть этих бактериоцинов не токсична и не иммуногенна.

Выделен штамм *Lactobacillus plantarum*, который продуцирует плантарицин, обладающий широким спектром действия, максимальный биосинтез бактериоцина происходит на мясном бульоне с 0,6% глюкозы. Бактериоцин

термостабилен, имеет мол. массу 3500 Да, установлена его аминокислотная последовательность. Казеин, выделенный из *Lactobacillus casei*, образуется при росте продуцента как в естественной, так и в синтетической средах [15].

Молочнокислые бактерии продуцируют ряд биологически-активных веществ с антимикробными свойствами. Антагонизм МКБ в ферментированных продуктах ассоциируется с их метаболитами, такими, как молочная и уксусная кислоты, перекись водорода или бактериоцины, представляющие себя молекулами пептидной природы [16; 17].

Самая высокая активность продукции бактериоцина *E. mundtii* QU2 была отмечена на среде МРС, тогда как наиболее интенсивный рост данного штамма наблюдался на среде АТР [19]. Аналогично, низкий уровень активности бактериоцина штамма *E. faecium* ST311LD был отмечен при росте на средах ВНІ и М17, несмотря на высокий титр клеток. В то же время, несмотря на хороший рост на мелассе, продукция бактериоцина у штамма *E. faecium* ST311LD отсутствовала [18]. Таким образом, оптимальные условия для роста клеток не всегда являются наилучшими для продукции бактериоцинов.

Некоторые представители молочнокислых пробиотических бактерий (например, *L. acidophilus*) вырабатывают высокоактивную перекись водорода, благодаря чему оказывают выраженное вирусоцидное действие в отношении вируса иммунодефицита человека [20].

Синтез бактериоцинов – наследственная особенность микроорганизмов, проявляющаяся в том, что каждый штамм способен образовывать один или несколько определенных, строго специфичных для него антибиотических веществ [21].

Естественно, проведение экспериментальных разработок по выявлению новых штаммов молочнокислых бактерий, проявляющих антиоксидантное и биоупленкообразующее действие, характеризующиеся бактериоцинпродукцией актуализирует практическую востребованность и эффективность пробиотических препаратов, в основе которых будут такие штаммы. А сочетание пробиотически активных штаммов молочнокислых бактерий с экстрактом тополя

бальзамического, характеризующегося противовоспалительным и цитопротекторным действием повысит их лечебно-профилактическую эффективность.

Список литературы

1. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://studbooks.net/503623/tovarovedenie/obschaya_harakteristika_bifido_laktobakteriy

2. Рыбальченко О.В. Структура и функции бактериальных биопленок симбиотических и условно-патогенных бактерий / О.В. Рыбальченко, В.М. Бондаренко, О.Г. Орлова // Верхневолжский медицинский журнал. – 2013. – Т. 11. – В. 4. С. 37–42.

3. Бондаренко В.М. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией / В.М. Бондаренко, А.А. Воробьев // Журнал микробиологии. – 2004. – С. 84–92.

4. Tallon R., P. Bressollier, and M. C. Urdaci. Isolation and characterization of two exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* EP56 // Res. Microbiol. 154:705–712. – 2003.

5. Stern N. J. et al. Isolation of a *Lactobacillus salivarius* Strain and Purification of Its Bacteriocin, Which Is Inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the Chicken Gastrointestinal System // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2006. – №9. – Vol. 50. – P. 3111–3116.

6. Зорина В.В. Влияние бактерий рода *Lactobacillus* на миграционную активность макрофагов / В.В. Зорина, Т.Н. Николаева, О.В. Шаповалова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2006. – №6. – С. 40–44.

7. Зорина В.В. Влияние бактерий рода *Lactobacillus* на продукцию интерферонов в норме и при экспериментальной шигеллезной инфекции / В.В. Зорина, А.А. Бабаянц, Т.Н. Николаева // Иммунология. – 2006. – №4. – С. 224–226.

8. Аксенов И.В. Оценка антиоксидантных и гепатопротекторных свойств штамма *Lactobacillus casei* 114001 на модели токсического поражения печени, индуцированного четыреххлористым углеродом / И.В. Аксенов, Л.В. Кравченко, Л.И. Авреньева, М.А. Васильева, Г.В. Гусева, Н.В. Трусов, М.А. Ускова // Вопросы питания. – 2009. – №5. – С. 24–30.

9. Merrit J.H., Kadouri D.E., Toole G.A. Growing and analyzing static biofilms // *Curr. Protoc. Microbiol.* – 2005. – №1. – P. 135–139.
10. Watnick P., Kolter R. Biofilm, city of microbes // *J. Bacteriol.* – 2000. – №182. – P. 2675.
11. Merrit J.H., Kadouri D.E., Toole G.A. Growing and analyzing static biofilms // *Curr. Protoc. Microbiol.* – 2005. – №1. – P. 135–139.
12. Смирнова Т.А. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок / Т.А. Смирнова, Л.В. Диденко, Р.Р. Азизбеян, Ю.М. Романова // *Микробиология.* – 2010. – №79 (4). – С. 435–446.
13. G.C.L. Wong, G.A.O 'Toole All together now: Integrating biofilm research across disciplines, *MRS Bulletin.* – 2011. – №36. – P. 339–342.
14. Рыбальченко О.В. Электронно-микроскопическое исследование межклеточных взаимодействий микроорганизмов при антагонистическом характере взаимоотношений // *Микробиология.* – 2006. – 75 (4). – С. 550–555.
15. Ильина Т.С. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития / Т.С. Ильина, Ю.М. Романова, А.Л. Гинцбург // *Генетика.* – 2004. – 40 (11). – С. 1–12.
16. Marugg J.D. Bacteriocins, their role in developing natural products // *Food biotechnol.* – 1991. – №3. – С. 305–312.
17. Abee T., Krockel L., Hill C. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning // *Int. J. Food Microbiol.* – 1995. – V. 28. – P. 169–185.
18. Cleveland J., Montville T.J., Nes I.F. and Chikindas M.L. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation // *Int.J.Food Microbiol.* – 2001. – V. 71. – P. 1–20.
19. Todorov S.D., Dicks M.T. Optimization of bacteriocin ST311LD production by *Enterococcus faecium* ST311LD, isolated from spoiled black olives // *J. Microbiol.* – 2005. – V. 43 (4). – P. 370–374.
20. Zendo T., Eungruttanagorn N., Fujioka S., Tashiro Y., Nomura K., Sera Y.,

Kobayashi G., Nakayama J., Ishizaki A., Sanomoto K. Identification and production of a bacteriocin from *Enterococcus mundtii* QU 2 isolated from soybean // *J. Appl. Microbiol.* – 2005. – V. 99 (5). – P. 1181–1190.

21. Klebanoff S. J., Coombs R. W. Viricidal effect of *Lactobacillus acidophilus* on human immunodeficiency virus type 1: possible role in heterosexual transmission // *J. Exp. Med.* – 1991. – №174 (1). – P. 289–292.

22. Горелов А.В. Влияние пробиотического продукта «Актимель» на состояние здоровья детей / А.В. Горелов, Д.В. Усенко // *Вопросы современной педиатрии.* – 2003 (2). – №4. – P. 87–90.

Кушманова Алина Мухтаровна – магистрант Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, Республика Казахстан, Астана.

Kushmanova Alina Mukhtarovna – graduate student of L.N. Gumilyov Eurasian National University, Republic of Kazakhstan, Astana.

Абжалелов А.Б. – Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Республика Казахстан, Астана.

Abzhalelov A.B. – L.N. Gumilyov Eurasian National University, Republic of Kazakhstan, Astana.
