

М. Г. САУБЕНОВА, Т. В. КУЗНЕЦОВА, А. Е. ХАЛЫМБЕТОВА,  
М. М. ШОРМАНОВА, А. А. АЙТЖАНОВА, М. Е. ЕЛУБАЕВА

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан)

## ФОРМИРОВАНИЕ АССОЦИАЦИЙ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ С ПОВЫШЕННОЙ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПО ОТНОШЕНИЮ К ДРОЖЖАМ РОДА *CANDIDA*

**Аннотация.** Из кисломолочных продуктов домашнего изготовления выделены и отобраны молочнокислые микроорганизмы, обладающие противогрибковой активностью, на их основе составлены ассоциации. Показано, что варьированием состава ассоциаций можно добиться более высокой степени антагонистической активности молочнокислых микроорганизмов по отношению к дрожжам рода *Candida*, являющихся возбудителями микозов различной локализации.

**Ключевые слова:** молочнокислые бактерии, лактозосбраживающие дрожжи, антагонистическая активность.

**Тірек сөздер:** сүтқышқылды бактериялар, лактоза ыдыратушы ашытқылар, антагонистік белсенділік.

**Keywords:** lactic acid bacteria, yeast lactose fermenting yeast, antagonistic activity.

**Введение.** Глубокие нарушения микробиологии кишечника, известные под названием «дисбактериоз», обусловлены, главным образом, вытеснением молочнокислых бактерий, что приводит к нарушению многих звеньев метаболизма и снижению сопротивляемости организма человека. В этих условиях получает преимущество условно-патогенная микрофлора кишечного тракта, которая служит эндогенным источником инфицирования организма, способствуя возникновению ряда заболеваний. В этиологической структуре различных инфекций увеличивается вес микотической составляющей [1-5]. По наблюдениям специалистов микроспеты осложняют оперативные вмешательства, являются причиной системных трудноизлечимых микозов, имитируют онко- и туберкулезные заболевания [6]. При этом частота обнаружения дрожжей рода *Candida* при микозах различной локализации за период с 2004 по 2009 гг. составила около 80% от всех обнаруженных видов грибов. Прогнозируется, что микозы будут наиболее распространенными болезнями недалекого будущего. Их стремительному распространению способствуют такие факторы как ухудшение общей экологической обстановки, химизация быта, неправильное питание, использование антибактериальных антибиотиков, стрессы, а также снижение иммунного статуса человека.

Коррекции микрофлоры кишечника, и, следовательно, профилактики различных заболеваний, традиционно добивались использованием молочнокислых продуктов. Молочнокислые бактерии являются одной из наиболее изученных групп микроорганизмов, однако их противогрибковой активности не уделялось особого внимания и среди патентованных штаммов и препаратов из них практически отсутствуют активные антагонисты грибов. Исключение составляют работы специалистов по медицинской микологии уже вплотную столкнувшихся с растущей проблемой микозов, в том числе кандидомикозов, и недостаточной эффективностью традиционной противогрибковой терапии. Так, Ермоленко Е. И. и др. [7], Хусмарк У. и др. [8] провели исследования чувствительности грибов рода *Candida* к действию лактобацилл. Тихомирова О. М. и Иванова Е. А. [9] провели скрининг микроорганизмов природной ассоциации «Тибетский рис» для оценки их способности ингибировать рост *Candida albicans* и отобрали 8 штаммов молочнокислых бактерий для дальнейшего изучения с целью получения на их основе пробиотических продуктов с противогрибковым действием.

При исследовании микрофлоры казахских национальных продуктов нами были выделены и отселекционированы новые штаммы молочнокислых микроорганизмов, обладающих антагонистической активностью по отношению к грибам – возбудителям трудноизлечимых кожных заболеваний человека и животных [10]. Было показано, что противогрибковая активность молочнокислых бактерий проявляется, главным образом, в их ассоциациях с лактозосбраживающими дрожжами [11].

Настоящая работа посвящена изучению зависимости противогрибковой активности ассоциации молочнокислых микроорганизмов от ее состава.

### Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили молочнокислые бактерии и лактозосбраживающие дрожжи, которые выделяли из кисломолочных продуктов домашнего изготовления и казахских национальных напитков. Для определения антагонистической активности в качестве тестовых культур использовали дрожжи *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *Candida sp. 1*, *Candida sp. 2*, *Candida sp. 3*. Посевы инкубировали при 30°C и 40°C. Антагонистическую активность составленных ассоциаций определяли диффузионным методом лунок. Ассоциации культивировали на коровьем молоке с 1% жирности в течение 24 ч при 30 и 40°C. Заквашенное молоко вносили в лунки диаметром 10 мм, подготовленные в газоне тест-культуры, в количестве 0,3 мл. Культивировали при 30° в течение 1-2 суток.

Статистическую обработку результатов исследований проводили по стандартной методике с использованием критерия Стьюдента для уровня значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Комбинированием молочнокислых бактерий и дрожжей было составлено более 90 ассоциаций. В состав большинства ассоциаций были включены две или три культуры молочнокислых бактерий и одна культура лактозосбраживающих дрожжей. Оптимальное количество дрожжей в ассоциации составляло от 15 до 30%.

Полученные данные показали, что из 90 составленных ассоциаций лишь 15 подавляли рост дрожжевых тест-культур. Девять из них обладали активностью в отношении одной-двух тест-культур, шесть ассоциаций ингибировали рост трех-четырёх культур дрожжей. Наиболее часто выявлялся фунгицидный эффект в отношении дрожжей *Candida guilliermondii*, их рост подавляли все 15 ассоциаций. Зоны подавления роста дрожжей рода *Candida* колебались в пределах 12-25 мм. Полученные данные приведены в таблице.

Диаметр зон подавления роста дрожжей рода *Candida*  
у различных ассоциаций молочнокислых микроорганизмов

№ ассоциации	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. albicans</i>	<i>Candida sp. 1</i>	<i>Candida sp. 2</i>	<i>Candida sp. 3</i>
КГ	25±2	14±1	–	–	25±2
3	25±2	13±1	–	–	–
4	19±1	–	13±1	–	–
10	24±2	–	–	20±2	23±2
24	18±1	–	–	–	–
41	21±1	–	–	13±1	12±1
51	25±2	–	–	–	13±1
52	21±1	–	–	–	12±1
53	20±1	–	–	21±1	20±2
54	20±1	–	–	–	20±2
55	25±1	13±1	12±1	–	20±2
56	23±1	–	–	–	14±1
57	20±1	–	–	–	13±1
58	24±2	–	–	–	30±2
60	23±2	–	–	–	30±2

Примечание: незаполненные ячейки означают отсутствие антагонистической активности.

Полученные данные свидетельствуют о том, что рост дрожжей *C. guilliermondii* успешно подавляется всеми отобранными ассоциациями молочнокислых микроорганизмов. Из тест-культур дрожжей рода *Candida*, не определенных до вида, наиболее сильно отобранные ассоциации подавляли рост дрожжей *Candida sp.3*. Что касается дрожжей *C. albicans*, то способность к подавлению их роста была обнаружена только у ассоциаций КГ, №3 и №55. Приведенные результаты показали, что при исследовании антагонистической активности дрожжей рода кандида следует использовать максимально большой набор этих микроорганизмов, выделенных из разных источников.

Далее была исследована возможность повышения противогрибковой активности ассоциаций молочнокислых микроорганизмов изменением их состава путем введения других микробных компонентов. На рисунках 1 и 2 показан принцип формирования ассоциаций, сочетающих и усиливающих антагонистическую активность отдельных микроорганизмов по отношению к дрожжам рода *Candida guilliermondii*.



10 – ассоциация термофильных молочнокислых бактерий *Str. thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. acidophilus*; Б – бифидобактерии; Д – лактозосбраживающие дрожжи *Kl. marxianus*; 10Б – ассоциация молочнокислых бактерий и бифидобактерий; 10Д – ассоциация молочнокислых бактерий и лактозосбраживающих дрожжей.

Рисунок 1 – Формирование ассоциации молочнокислых микроорганизмов на основе термофильных молочнокислых бактерий с повышенными показателями антагонистической активности по отношению к дрожжам *C. guilliermondii*



К – кефирные зерна, Б – бифидобактерии, Д – лактозосбраживающие дрожжи *Kl. marxianus*.

Рисунок 2 – Формирование ассоциации молочнокислых микроорганизмов на основе кефирных зерен с повышенными показателями антагонистической активности по отношению к дрожжам *C. guilliermondii*

На рисунке 1 представлены: ассоциация термофильных молочнокислых бактерий *Str. thermophilus*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* и *L. acidophilus*, обладающая сравнительно небольшой активностью подавления роста дрожжей *C. guilliermondii*, бифидобактерии, а также лактозосбраживающие дрожжи *Kl. marxianus*, не обладающие такой активностью вообще. Показано, что при введении в состав ассоциации термофильных молочнокислых бактерий других микроорганизмов, их противогрибковая активность возрастает как при введении в нее бифидобактерий, так и в еще большей степени лактозосбраживающих дрожжей.

Результаты исследования, представленные на рисунке 2, показывают, что бифидобактерии *B. bifidum*, входящие в состав препарата «Бифидомакс» фирмы «Витомакс Е», и дрожжи *Kl. marxianum*, выделенные нами из шубата и не обладающие антагонистической активностью по отношению к дрожжам рода *Candida*, способствуют повышению этого показателя у смешанной культуры молочнокислых микроорганизмов, представляющих собой «кефирные зерна», несмотря на то, что эта ассоциация уже включает дрожжевые организмы.

Таким образом, показано, что варьированием состава ассоциаций можно добиться более высокой степени антагонистической активности молочнокислых микроорганизмов по отношению к дрожжам рода *Candida*, являющимся возбудителями микозов различной локализации.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. – М.: Ви Джи Групп, 2008. – 336 с.
- 2 Крюков А.И., Кунельская В.Я., Шадрин Г.Б. Микотические поражения ЛОР-органов // Лечебное дело. – 2011. – № 3. – С. 5-10.
- 3 Коган М.И., Ибишев Х.С., Куцвалова О.Ю., Газаев З.И. Микотическая инфекция в этиологической структуре осложненной инфекции мочевых путей // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 101-103.
- 4 Морозова О.В. Роль грибковой инфекции в этиологии риносинуситов // Практическая медицина. – 2011. – № 2. – С. 32-34.
- 5 Иванова Ю.А. Распространенность микозов кожи и ее придатков у пациентов с заболеваниями соединительной ткани на фоне применения иммуносупрессивных противовоспалительных препаратов // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 32-34.
- 6 Билялова К.И., Мапкеев А.К., Каламарова Л.И. Особенности микробиоценоза детей в норме и патологии. – Алматы: Изд-во «Ценные бумаги», 2002. – 114 с.
- 7 Ермоленко Е.И., Ждан-Пушкина С.Х., Гэфен Г.Е., Зарх Г.А., Тец В.В. Чувствительность грибов рода *Candida* к действию лактобацилл // Успехи медицинской микологии. – 2003. – Т. 1. – С. 13-14.
- 8 Хусмарк У., Форсгрэн Брукс У., Грахн Хоканссон Е., Ренквист Д. *Lactobacillus fermentum* Ess-1, DSM17851 и его применение для лечения и/или профилактики кандидоза и инфекций мочевых путей // Патент RU 2413761. – 2011.
- 9 Тихомирова О.М., Иванова Е.А. Противогрибковая активность микроорганизмов природной ассоциации «Тибетский рис» // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – № 4. – С. 39-42.
- 10 Саубенова М.Г., Пузыревская О.М., Никитина Е.Т., Байжомартова М.М. Консорциум молочнокислых бактерий и дрожжей *Streptococcus lactis* П-1, *Streptococcus cremoris* К-3, *Lactobacillus bulgaricus* С-5, *Saccharomyces lactis* 13, обладающих противогрибковой и антибактериальной активностью / Патент РК №37179. – 05.02.2002.
- 11 Саубенова М.Г., Пузыревская О.М. Молочнокислые бактерии – антагонисты дрожжей рода *Candida* // Межд. научно-практ. конф. «Биологически активные добавки к пище и функциональные продукты питания – искоренение микронутриентной недостаточности», 30 июня – 1 июля. – Алматы, 2005. – С. 212-215.

#### REFERENCES

- 1 Klimko N.N. Mikozy: diagnostika i lechenie. M.: Vi Dzhi Grupp, 2008. 336 s. (in Russ.).
- 2 Krjukov A.I., Kunel'skaja V.Ja., Shadrin G.B. Mikoticheskie porazhenija LOR-organov. Lechebnoe delo. 2011. № 3. S. 5-10. (in Russ.).
- 3 Kogan M.I., Ibishev H.S., Kucevalova O.Ju., Gazaev Z.I. Mikoticheskaja infekcija v jetiologicheskoj strukture oslozhennoj infekcii mochevyh putej. Medicinskij vestnik Bashkortostana. 2011. T. 6, № 2. S. 101-103. (in Russ.).
- 4 Morozova O.V. Rol' gribkovoju infekcii v jetiologii rinosinusitov. Prakticheskaja medicina. 2011. №2. S. 32-34. (in Russ.).
- 5 Ivanova Ju.A. Rasprostranennost' mikofov kozhi i ee pridatkov u pacientov s zabolevanijami soedinitel'noj tkani na fone primenenija immunosupressivnyh protivovospalitel'nyh preparatov. Problemy medicinskoj mikologii. 2011. T. 13, № 1. S. 32-34. (in Russ.).
- 6 Biljalova K.I., Mashkeev A.K., Kalamkarova L.I. Osobennosti mikrobiocenoza detej v norme i patologii. Almaty: Izd-vo «Cennye bumagi», 2002. 114s. (in Russ.).
- 7 Ermolenko E.I., Zhdan-Pushkina S.H., Gefen G.E., Zarh G.A., Tec V.V. Chuvstvitel'nost' gribov roda Candida k dejstvuju laktobacill. Uspehi medicinskoj mikologii. 2003. T. 1. S. 13-14. (in Russ.).
- 8 Husmark U., Forsgren Bruks U., Grahn Hokansson E., Renkvist D. Lactobacillus fermentum Ess-1, DSM17851 i ego primenenie dlja lechenija i/ili profilaktiki kandidoza i infekcij mochevyh putej. Patent RU 2413761. 2011. (in Russ.).
- 9 Tihomirova O.M., Ivanova E.A. Protivogribovaja aktivnost' mikroorganizmov prirodnoj associacii «Tibetskij ris». Problemy medicinskoj mikologii. 2011. №4. S. 39-42. (in Russ.).
- 10 Saubenova M.G., Puzyrevskaja O.M., Nikitina E.T., Bajzhomartova M.M. Konsorcium molochnokislyh bakterij i drozhzhej Streptococcus lactis P-1, Streptococcus cremoris K-3, Lactobacillus bulgaricus C-5, Saccharomyces lactis 13, obladajushhij protivogribovoj i antibakterial'noj aktivnost'ju. Patent RK №37179. 05.02.2002. (in Russ.).
- 11 Saubenova M.G., Puzyrevskaja O.M. Molochnokislye bakterii – antagonisty drozhzhej roda Candida. Mezhd. Nauchno-prakt. konf. «Biologicheski aktivnye dobavki k pishhe i funkcional'nye produkty pitaniya – iskorenenie mikronutrientnoj nedostatochnosti», 30 ijunja – 1 ijulja. Almaty, 2005. S. 212-215. (in Russ.).

## Резюме

М. Г. Саубенова, Т. В. Кузнецова, А. Е. Халымбетова, М. М. Шорманова, А. А. Айтжанова, М. Е. Елубаева

(ҚР БҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан)

### CANDIDA ТУЫСЫНЫҢ АШЫТҚЫЛАРЫНА ҚАРСЫ АНТАГОНИСТІК БЕЛСЕНДІЛІГІ БАР СҮТҚЫШҚЫЛДЫ МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ АССОЦИАЦИЯСЫН ЖАСАУ

Үй жағдайында жасалған сүтқышқылды өнімдерден саңырауқұлаққа қарсы қасиеті бар сүтқышқылды микроорганизмдер бөлініп алынды және сұрыпталды. Олардың негізінде ассоциациялар құрылды. Ассоциация құрамын өзгерте отырып сүтқышқылды микроорганизмдердің түрлі аймақта ошақталатын микоз ауруының қоздырғышы болып табылатын *Candida* туысының ашытқыларына қарсы антагонистік белсенділігін жоғарылатуға болады.

**Тірек сөздер:** сүтқышқылды бактериялар, лактоза ыдыратушы ашытқылар, антагонистік белсенділік.

## Summary

M. G. Saubenova, T. V. Kuznetsova, A. E. Khalymbetova, M. M. Shormanova, A. A. Aitghanova, M. E. Elubaeva

(«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Republic of Kazakhstan)

### CREATION ASSOCIATION OF LACTIC ACID MICROORGANISMS WITH HEIGHTENED ANTAGONISTIC ACTIVITY AGAINST YEAST OF GENUS *CANDIDA*

From the homemade dairy products were isolated and selected lactic acid microorganisms with antifungal activity and on the basis of them were made association. It is shown, that by diversify composition of association can reach heightened antagonistic activity of lactic acid microorganisms against yeast of genus *Candida*, which causes mycosis of varied location.

**Keywords:** lactic acid bacteria, yeast lactose fermenting yeast, antagonistic activity.