N E W S
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL
ISSN 2224-5308
Volume 6, Number 324 (2017), 163 – 169

I. A. Ratnikova, N. N. Gavrilova, K. Bayakyshova,
Z. Zh. Turlybayeva, L. A. Kosheleva, O. G. Chugay

RGP "Institute of Microbiology and Virology" of KN of MAUN RK, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: iratnikova@list.ru

LYSOZYME AND ANTI-INTERFERON ACTIVITY OF STRAINS OF THE LACTIC AND PROPIONIC ACID BACTERIA WHICH ARE A PART OF A PROBIOTIC POLILAKTOBAK

Abstract. Presence of lysozyme and anti-interferon activity at strains of the lactic and propionic acid bacteria which are grown up on two nutrient mediums is studied: MRS and on whey with barmy extract. The activity was defined in liquid cultures and sublimationally by +10% of SOM which are dried up from 7% of sucrose. It is established that in the liquid and dried-up cultures of lactic (Lactobacillus cellobiosus 20, Lactobacillus brevis 139, Lactobacillus plantarum 14d) and propionic sour bacteria (Propionibacterium shermanii-2/10) which are a part of the probiotic Polilaktobak intended for treatment the gospiitalnykh of infections have lysozyme activity and have no anti-interferon activity (with interferon in concentration 1:40 and 1:60) that promotes increase in therapeutic efficiency of the offered pro-biotic medicine. Results of researches can make a contribution to development of ideas of a range of biological activity of pro-biotic medicines that will allow using more widely them for prevention and treatment of various diseases.

Keywords: probiotic, Lactobacillus, Propionibacterium, lysozyme activity, anti-interferon activity.

УДК 579:864.1:57.008.6:577.115

И. А. Ратникова, Н. Н. Гаврилова, К. Баякышова,
З. Ж. Турлыбаева, Л. А. Кошелева, О. Г. Чугай

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

ЛИЗОЦИМНАЯ И АНТИИНТЕРФЕРОНОВАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ И ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ПРОБИОТИКА ПОЛИЛАКТОБАК

Аннотация. Изучено наличие лизоцимной и антиинтерфероновой активности у штаммов молочнокислых и пропионовокислых бактерий, выращенных на двух питательных средах: МРС и на молочной сыворотке с дрожжевым экстрактом. Активность определяли в жидких культурах и сублимационно высушенных с 7% сахарозы+10% СОМ. Установлено, что в жидких и высушенных культурах молочнокислых (*Lactobacilluscellobiosus*20, *Lactobacillusbrevis* 139, *Lactobacillusplantarum* 14д) и пропионовокислых бактерий (*Propionibacterium shermanii*-2/10), входящих в состав пробиотика Полилактобак, предназначенного для лечения госпиитальных инфекций, обладают лизоцимной активностью и не имеют антиинтерфероновой активности (с интерфероном в концентрации 1:40 и 1:60), что способствует повышению терапевтической эффективности предлагаемого пробиотического препарата. Результаты исследований могут внести вклад в развитие представлений о спектре биологической активности пробиотических препаратов, что позволит более широко использовать их для профилактики и лечения различных заболеваний.

Ключевые слова: пробиотик, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, лизоцимная активность, антиинтерфероновая активность.

Успешное развитие производства препаратов с пробиотическими свойствами сопряжено с актуальной проблемой получения высокоактивных штаммов лакто- и бифидобактерий, способных подавлять рост патогенных и условно-патогенных микроорганизмов за счет продукции биологически активных веществ, конкуренции за лимитируемые нутриенты и сайты адгезии на кишечной стенке; влияния на ферментативную активность желудочно-кишечного тракта и стимуляции иммунной системы организма хозяина [1-4].

В настоящее время на рынке появилось много пробиотических препаратов и БАДов на основе живых микроорганизмов. Характеристика их эффективности представлена достаточно широко [5-18]. Вместе с тем, известные лечебно-профилактические препараты против кишечных инфекций, состоящие из молочнокислых и бифидобактерий, не всегда эффективны, так как имеют недостаточно широкий антимикробный спектр действия. Одним из факторов, определяющих антагонистическую активность пробиотических микроорганизмов является их способность к синтезу лизоцима, который обуславливает определенные селективные преимущества в микробномценозе [19]. Известно, что некоторые микроорганизмы могут разрушать интерферон, содержащийся в крови человека и животных и играющий важную роль в обеспечении иммунной защиты организма [20]. Детальное изучение особенностей лечебно-профилактических препаратов, основанных на различных видах микроорганизмов, представляется актуальным, так как определяет пути практического применения каждого биопрепарата.

Целью наших исследований было изучение лизоцимной и антиинтерфероновой активности пробиотика Полилактобак, предназначенного для профилактики и лечения госпитальных инфекций.

Методы исследования. Лизоцимную активность определяли по методу J. Hawiger. Результаты оценивали по наличию зон лизиса микрококка вокруг колоний исследуемых штаммов [21].

Для определении антиинтерфероновой активности использовали человеческий лейкоцитарный интерферон В, качестве тест-культуры использовали *Corinebacteriumxerosis*. По наличию или отсутствию роста тест культуры судили о способности исследуемых штаммов к разрушению интерферона [22].

Обсуждение результатов. Лизоцимную и антиинтерфероновую активность определяли у штаммов молочнокислых бактерий *L. cellobiosus* 20, *L. brevis* 139, *L. plantarum* 14д и пропионовокислых бактерий *P. shermanii* 2/10, входящих в состав пробиотика Полилактобак. Штаммы выращивали на двух питательных средах: МРС и на молочной сыворотке с дрожжевым экстрактом. Активность определяли в жидких культурах и сублимационно высушенных с 7% сахарозы + 10% СОМ.

Для определения лизоцимной активности в качестве тест-микроорганизма использовали *Micrococcusluteus*.

Культуру *M.luteus* выращивали в течение 24 час в термостате при 37°С, затем ее смывали со скошенного агара 0,5%-ным раствором NaCL и стерилизовали в автоклаве при 1 атм. в течение 15 мин. Взвесь убитой тест-культуры помещали в пробирки с 15мл 0,7%-ного питательного агара с температурой 50^0С из расчета 10^9 клеток на 1 мл среды и тщательно перемешивали. Затем агаровую среду с внесенными в нее убитыми микрококками разливали чашки Петри и, после застывания, подсушивали в термостате при 37^0С в течение двух час. На поверхность подсушенного агара наносили в виде капель исследуемые культуры молочнокислых бактерий. На одну чашку Петри помешали 7–8 исследуемых культур. Результат учитывали через 24–48 час инкубации по зонам лизиса вокруг микроколоний.

Выявлено, что все исследуемые штаммы молочнокислых бактерий обладают лизоцимной активностью. Зоны лизиса тест-культуры*M. luteus* пробиотическими культурами при росте на среде МРС составили для *L. cellobiosus*20 – 12,0 м; *L. brevis* 139 – 10,0; *L. plantarum* 14д – 13,5 мм. У пропионовокислых бактерий *P. shermanii*-2/10 лизоцимная активность не выявлена. После сублимационного высушивания лизоцимная активность у испытуемызх молочнокислых бактерий сохранилась. При этом зона лизиса тест-культуры у штамма *L. plantarum* 14д изменились незначительно (12,5 мм), а у *L. brevis* 139 и *L. cellobiosus*20 осталась на том же уровне (рисунок 1). Титр молочнокислых и пропионовокислых бактерий составлял до высушивания от 2,4 до 4,8х10^9КОЕ/мл, после высушивания от 2,2 до 4,5х10^9 КОЕ/г (рисунок 2).

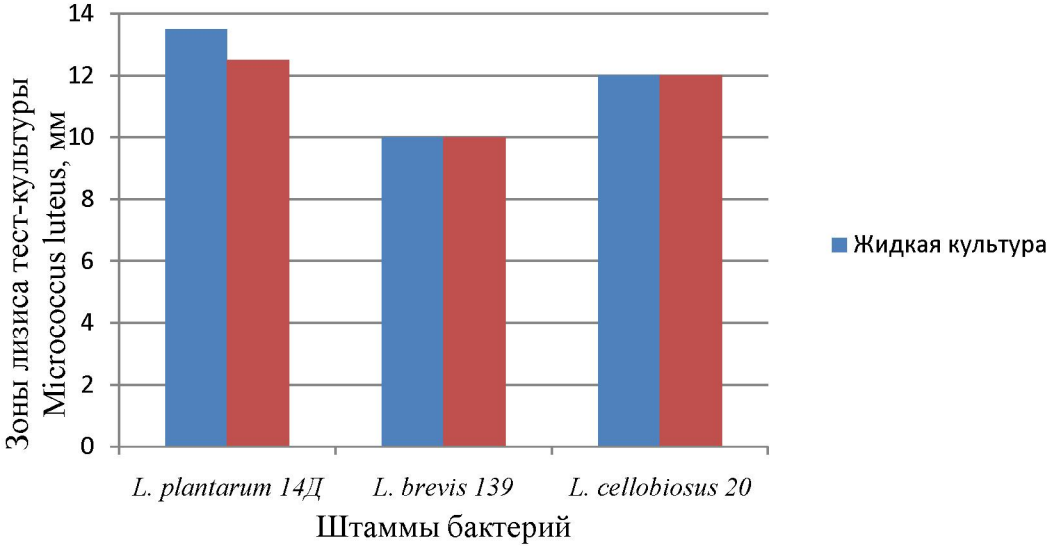

Рисунок 1 – Лизоцимная активность бактерий, входящих в состав пробиотика Полилактобак в жидком и сухом виде (на среде МРС)

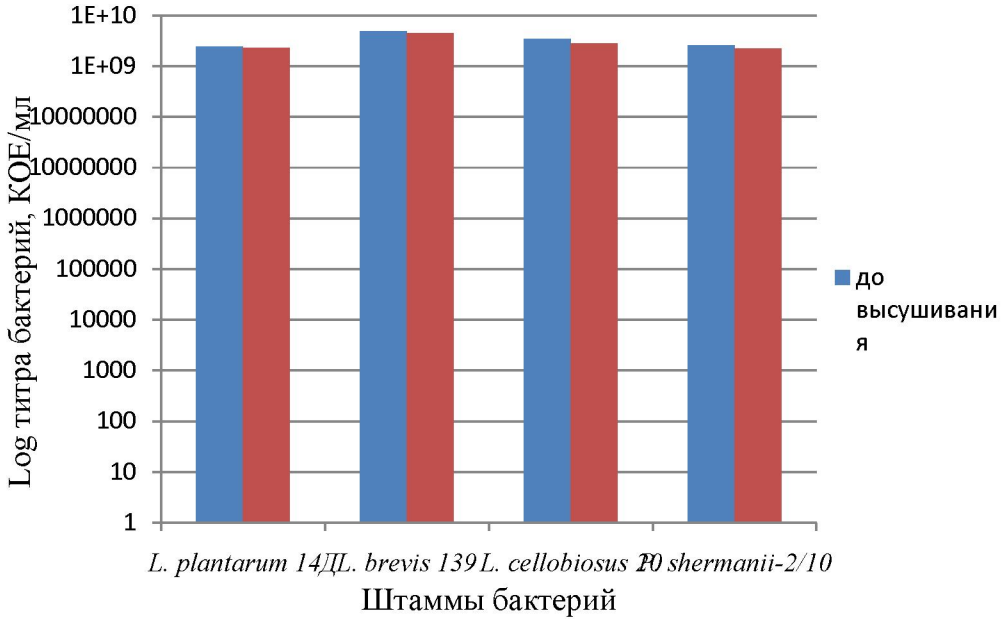

Рисунок 2 – Титр бактерий, входящих в состав пробиотика Полилактобак до и после высушивания на среде МРС

Зоны лизиса тест-культуры*M. luteus* пробиотическими культурами при росте на молочной сыворотке с дрожжевым экстрактом составили для *L. Cellobiosus* 20 – 11,5 мм; *L. brevis* 139 – 9,5; *L. plantarum* 14д – 13,0 мм. У пропионовокислых бактерий *P. shermanii*-2/10 лизоцимная активность не выявлена.

После сублимационного высушивания лизоцимная активность у испытуемых молочнокислых бактерий также сохранилась.

При этом зоны лизиса тест-культуры у штаммов *L. plantarum* 14д и *L. cellobiosus*20 изменились незначительно, а у *L. brevis* 139 осталась на том же уровне (рисунок 3). Титр молочнокислых и пропионовокислых бактерий составлял до высушивания от 2,0 до 2,8х10^9КОЕ/мл, после высушивания от 1,8х10, до 2,5х10^9 КОЕ/г (рисунок 4).