

УДК 579.83/88

Т.В. Кондратюк¹, Т.В. Мелешко²

^{1,2}Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
Шампанський провулок, 2, м. Одеса, 65058, Україна

СКРИНІНГ ШТАМІВ ЛАКТОБАЦИЛ З БАКТЕРІОЦИНОГЕННИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

В останні роки все більшу увагу приділяють вивченню метаболітів лактобактерій, що мають білкову природу – бактеріоцинам. Відомо, що ці речовини володіють бактерицидними властивостями та продукуються молочнокислими бактеріями у процесі їх життєдіяльності.

Згідно сучасним уявленням про бактеріоцини, їх легко можна відрізнити від інших небілкових антибіотичних речовин і антибіотиків широкого спектру дії [4]. Процес синтезу бактеріоцинів контролюється і синхронізується міжклітинними комунікативними взаємодіями (“почуття кворуму”) і є механізмом, який дозволяє змінювати щільність клітинної популяції [5].

Із застосуванням сучасних методів генної інженерії проводяться дослідження, спрямовані на отримання штамів-продуцентів бактеріоцинів з високою антимікробною активністю і стабільністю [2].

Метою дослідження був пошук серед штамів лактобактерій, виділених з різних природних джерел, тих, що проявляють бактеріоциноподібну активність, а також оцінка їх перехресного антагонізму.

Досліджено 40 ізольованих із природних джерел штамів лактобацил, 6 типових колекційних і 65 колекційних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів у ролі індикаторних мікроорганізмів. Серед тест-мікроорганізмів були представники бактерій виду *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Streptococcus agalactiae*, *Candida albicans*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*.

Антагоністичну активність вивчали використовуючи модифікований лунково-дифузійний метод (з діаметром лунок 7 мм). Для забезпечення кращої дифузії активних речовин в агар посіви витримували 1 годину при 4 °С. Антимікробну активність визначали, вимірюючи діаметри зон затримки росту індикаторних мікроорганізмів навколо лунки. Вважали, що мікроорганізм має антагоністичну активність, якщо діаметр зони затримки росту перевищує 11 мм.

Для пояснення природи антагоністичної дії лактобацил використовували різні модифікації досліду [3]: в тест-культуру вносили

Біологічні дослідження. – 2013: матеріали IV наук.-практич. всеукр. конф., 16-18 квітня 2013 р. – Житомир, 2013.

карбонат кальцію в концентрації 25 мкг/мл для інгібування дії молочної кислоти; додавали каталазу в кінцевій концентрації 1 мкг/мл для виключення антибактеріальної дії пероксиду водню.

У ході проведення досліджень визначили частоту, з якою штами лактобактерій з високою антагоністичною активністю зустрічалися в різних природних субстратах.

Для штамів лактобацил, що показали інгібуючий ефект, не пов'язаний із синтезом молочної кислоти та пероксиду водню, проводили додаткові дослідження - вивчення їх антагоністичної активності щодо близькоспоріднених видів. Для цього використовували метод перпендикулярних штрихів відповідно до методики Н. С. Егорова та лунково-дифузійний метод [1]. Усі досліди проводили у трикратній повторності.

У результаті проведених досліджень показано, що штами лактобактерій, виділені з природних субстратів, проявляли значну антимікробну дію по відношенню до ряду умовно-патогенних мікроорганізмів.

У ході проведення досліджень були відзначені види бактерій з найбільш вираженою антагоністичною активністю та основні субстрати, в яких відмітили найбільшу частоту виявлення штамів лактобактерій з яскраво вираженими антагоністичними ознаками. Так, найбільш високу антагоністичну дію по відношенню до умовно-патогенних мікроорганізмів проявляли представники гомоферментативних бактерій виду *Lactobacillus acidophilus*. Субстратами, з яких були ізольовані представники з найбільш характерно вираженими ознаками антагонізму, виявилися кисле молоко, квашені овочі та гриби.

Для деяких штамів лактобацил, що володіють високою антагоністичною активністю, відмітили зони затримки росту, створювані їх метаболітами, при спільному культивуванні з найбільш стійкими індикаторними мікроорганізмами.

Було визначено природу антибактеріальних речовин, які продукуються деякими дослідженими штамми лактобактерій. Дослідження показали, що підтримка рН середовища на постійному рівні приводить до часткової втрати антагоністичної активності майже всіх штамів лактобактерій через нейтралізацію дії молочної кислоти карбонатом кальцію. Встановлено, що штам *L. fermentum* OL25 активно синтезує в середовище пероксид водню, бо зберігав здатність до росту на живильних середовищах, але втрачав свої антагоністичні властивості. Скринінг лактобактерій на бактеріюциногенність показав, що два штами – *L. plantarum* Po2 та *L. plantarum* OL12, ізольовані з некомерційно ферментованих грибів та квашених овочів відповідно, проявляли виражену антагоністичну активність щодо близькоспоріднених штамів лактобактерій дією речовини, природа якої відмінна від молочної кислоти та пероксиду

Біологічні дослідження. – 2013: матеріали IV наук.-практич. всеукр. конф., 16-18 квітня 2013 р. – Житомир, 2013.

водню.

Додатково був проведений перехресний антагонізм [4] штаму *L. plantarum* Po2 щодо 10-ти близькоспоріднених штамів лактобактерій виду *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. curvatus*. Отримані дані дали змогу упевнитися та підтвердити бактерицидні властивості даного штаму.

Таким чином, результати показали, що найбільш виражений антагонізм проти тест-культур (умовно-патогенні мікроорганізми) характерний для бактерій виду *L. acidophilus*. Антагоністичний ефект штамів *L. plantarum* Po2 та *L. plantarum* OL12 на мікроорганізми різних таксономічних груп (інгібування росту майже 95 % всіх тест-мікроорганізмів) чинять бактериоциноподібні продукти синтезу цих бактерій. Даний факт можна сприймати як той, що є важливим у перспективі використання цих штамів у промисловості, медицині та сільському господарстві.

Важливим етапом подальших досліджень є вивчення властивостей та спектру дії бактериоциноподібних речовин, а також визначення кінетики росту штамів-продуцентів для збільшення виходу бактериоцину.

Література

1. Блинкова Л. П. Перспективы использования бактериоцинов для профилактики и терапии инфекций // Микробиол. эпидемиол. – 1984. – № 5 – С. 10–15.
 2. Дімова М. І. Бактериоциногенні і пробіотичні властивості лактобацил: дис. канд. біол. наук: 03.00.07.— К., 2007. — С. 112-136.
 3. Егоров Н. С., Баранова И. П. Бактериоцины. Образование, свойства, применение // Антибиотики и химиотерапия. – Т. 44. – № 6. – 1999. – С. 33–40.
 4. Тюрин М. В., Шендеров Б. А., Рахимова Н. Г. К механизму антагонистической активности лактобацилл // ЖМЭИ. – 1989. – № 2. – С. 3–8.
 5. Jack R.W. et al. Bacteriocins of gram-positive bacteria // Microbiol. Rev. – 1995. – Vol. 59, № 2. – P. 170–200.
- УДК: 579.852.11