

Дақылдар	Дақылдың өсуі тежелу аймағының мөлшері (мм)										
	Ампициллин (10)*	Эритромицин (10)*	Тетрациклин(10)*	Ванкомицин (30)*	Рифамицин (2)*	Линкомицин (10)*	Неомицин (30)*	Карбенициллин (25)*	Цефтриаксон (30)*	Цефамандол (30)*	Ципрофлоксацин (5)*
<i>Lc. lactis</i> КГ-4	14±0,42	19±0,57	13±0,39	22±0,66	16±0,48	3±0,09	28±0,84	Өсу жоқ	19±0,57	13±0,39	15±0,45
<i>Lc. cremor.</i> КГ-5	18±0,54	11±0,33	2 ±0,06	8±0,24	7±0,21	6±0,28	20±0,60	22±0,66	16±0,48	26±0,78	Өсу жоқ
<i>Lc. lactis</i> МГ-1	20±0,50	21±0,42	8±0,16	16±0,54	8±0,25	10±0,29	17±,59	12±0,41	9±0,3	Өсу жоқ	Өсу жоқ
<i>Lb. delbrueckii</i> ВМ-1	11±0,34	15±0,30	11±0,21	16±0,62	±0,31	13±0,49	13±0,46	25±0,79	17±0,62	15±0,50	3±0,1

Ескерту: (-)- мүлдем төзімсіз, өсу аймағы жоқ; \* -антибиотиктердің мөлшері, мкг

Сонымен, жұмыста әртүрлі субстрат көздерінен бөлініп алынған сүтқышқыл бактерияларының биологиялық қасиеттерінің ұзақ уақыт сақтаудан кейінгі тұрақтылықтары жоғарғы деңгейде екендігі анықталды.

#### Әдебиеттер

1. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Пробиотики и функциональное питание. М.: Издат. Грант, 2001.
2. Сидякина Т.М. Консервация микроорганизмов в коллекциях культур. //Консервация генетических ресурсов. Методы. Проблемы. Перспективы.- Пушино, 1991. - С. 81-159.
3. Баяқышева К. А., Ратникова И. А., Габилова И. И. Кислотообразующая активность молочнокислых бактерий и бифидобактерий в зависимости от состава питательной среды//Биотех. Теор и прак. - 2001. - № 3 – 4.
4. Нетрусова А.И. Практикум по микробиологии. – Москва, 2005.
5. Егорова Н.С., Баранова И.П. Бактериоцин. Образование, свойства, применение//Антибиотики и химиотерапия. - 1999. - №6. С. 33-40.
6. Бондаренко В.М., Грачева Н.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериозы кишечника у взрослых. – Москва, 2003.

#### Резюме

В результате исследований выявлено, что биологические ценные свойства штаммов *Lactococcus lactis* МГ-1, *Lactobacillus delbrueckii* ВМ-1, *Lactococcus cremoris* КГ-5 и *Lactococcus lactis* КГ-4 после длительного хранения сохранены на высоком уровне.

#### Summary

As a result research it is revealed that biological valuable properties *Lactococcus lactis* МГ-1, *Lactobacillus delbrueckii* ВМ-1, *Lactococcus cremoris* КГ-5 and *Lactococcus lactis* КГ-4 after storage are kept at a high level.

УДК 579.083.13

Абитаева Г.К., Садуахасова С.А., Нағызбекқызы Э.

### РАЗРАБОТКА СУППОЗИТОРИЕВ, СОДЕРЖАЩИХ ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ШТАММЫ *LACTOBACILLUS*

РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», г. Астана, Казахстан  
gulyaim\_as@mail.ru

Влагалище представляет собой динамичную экосистему, где в основном доминируют определенные виды *Lactobacillus*, оказывающие существенное влияние на микрофлору влагалища [1, 2]. Однако, эта флора под действием ряда эндогенных и экзогенных факторов, возникающих при сахарном диабете, применении противозачаточных средств, антибиотиков и других воздействий приводят к серьезным осложнениям в виде бактериального вагиноза [3, 4].

Возникновение дисбактериоза влагалища характеризуется резким снижением количества лактобактерий и бурным развитием облигатно-анаэробной флоры. Бактериальный вагиноз (БВ) является острой проблемой в гинекологии и встречается более чем в 65% случаев. Бактериальный вагиноз создает реальную угрозу возникновения бесплодия, острых воспалительных заболеваний придатков матки, инфицирования плода во время беременности и родов. Считается, что в современном мире каждая женщина хотя бы один раз в жизни имела бактериальный вагиноз.

Присутствие лактобактерий в норме сдерживает патологические процессы во влагалище, поддерживает нормальную кислую реакцию среды, выполняющую роль естественного защитного барьера. Защитные свойства лактобактерий обусловлены антагонистической, кислотообразующей и адгезивной активностью, а также способностью продуцировать лизоцим, перекись водорода.

На сегодняшний день, несмотря на многочисленные публикации, касающиеся вопросов терапии и предлагаемых схем лечения БВ с использованием новых антибактериальных препаратов, лечение БВ остается одной из актуальных проблем гинекологии [5].

Наиболее безопасным и перспективным в настоящее время представляется использование пробиотиков - препаратов, которые содержат в составе живые микроорганизмы, являющиеся представителями нормальной микрофлоры человека. Есть множества пробиотических препаратов, которые ориентированы на вагинальный способ введения, для коррекции вагинальной микрофлоры и оральные пробиотики, действие которых направлено на коррекцию дисбактериоза кишечника.

Однако многие клиницисты отдают предпочтение интروвагинальному введению, отмечая при этом его положительные стороны, такие как: увеличение скорости всасывания и местного воздействия лекарственных веществ на очаг воспаления, пролонгирование лечебного эффекта, снижение уровня побочного действия, возможность совмещения нескольких лекарственных веществ [6].

**Целью** данного исследования является выбор оптимального состава основы суппозитория и оценка биологической активности полученного комплекса.

### **Материалы исследования**

Объектом исследований является консорциум лактобактерий, состоящий из двух штаммов лактобактерий *L. salivarius* и *L. fermentum*, выделенных из влагалища клинически здоровых женщин репродуктивного возраста. Отобранные культуры обладали высокими антагонистическими и адгезивными свойствами, устойчивостью к метронидазолу, клиндамицину. Культуры лактобактерий были лиофилизированы на лиофильной сушке VIR TIS 4K. Для изучения антагонистической активности полученного пробиотического комплекса были использованы клинические штаммы *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*. Для культивирования лактобактерий использовалась среда MRS производства Himedia Laboratories Pvt. В качестве основы суппозитория использовались синтетический глицерин и очищенный желатин производства Fluka.

### **Методы исследований**

Суппозитории готовили методом выливания в формы. В работе использован желатин, который растворяли в воде и кипятили на водяной бане до желеобразного состояния, стерилизовали текучим паром в течение 3 дней. Затем вносили стерильный глицерин и медленно подогревали при 35 - 40° на водяной бане до однородной массы. Основа смешивалась с пробиотическим консорциумом таким образом, чтобы получить концентрацию лактобактерий в комплексе  $10^7$ - $10^8$  кл/мл. Использовались лиофилизированные культуры лактобактерий.

Внешнюю текстуру полученных свечей наблюдали визуально. Температуру плавления и время растворения суппозитория определяли по методикам государственной фармакопеи РК [7].

Антагонистические свойства комплекса определяли методом диффузии в агар по диаметру зоны отсутствия роста тест культур: *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*. Тест культуры в виде суспензии клеток в количестве 1 млрд/мл (по бактериальному стандарту мутности) наносили на поверхность чашки Петри, после этого вырезали лунки сверлом диаметром 10 мм и заполняли их культурами лактобактерий (0,1 мл). Зоны замеряли через 48 часов, результаты представлены без вычета диаметра зоны лунки [8]. Количество живых клеток лактобактерий определяли методом серийных разведений с последующим высевом на плотную питательную среду MRS.

### Результаты и обсуждение

Состав основы суппозитория существенным образом влияет на проявление терапевтического действия, равномерность распределения и точность дозирования основных действующих компонентов. При выборе суппозиторной основы руководствовались тем, что желатин используется в качестве протектора для лактобактерий при их сублимационной сушке. По результатам многих исследований, биологическая активность молочнокислых бактерий в большей степени сохраняется с применением желатина. Немаловажное значение придавалось экономическому фактору, при анализе себестоимости различного сырья для препарата мы выяснили, что желатин является наиболее дешевым и доступным сырьем, не требует особых условий использования.

Глицерин сочетает в себе такие уникальные характеристики, как вязкость, гигроскопичность, растворимость, устойчивость, прозрачность, долгий срок хранения, он не имеет запаха и нетоксичен. Другими словами, обладает множеством отличительных качеств, которые так необходимы для применения в производстве фармацевтических препаратов.

В качестве основы были выбраны три составных варианта, представленные в таблице 1.

После выливания варианты 1 и 2 приобретали конусообразную форму, были однородны по консистенции, желто-коричневого цвета, средняя масса которых составляла 1,5 г. Внешняя структура была твердой, гладкой и эластичной. При температуре плавления 36,4 °С свеча варианта 1 растворялась в течение 15 минут, а варианта 2 - за 10 минут (рисунок 1). Внешний вид и структурно-механические свойства варианта 3, с концентрацией желатина 12,5%, не соответствовали требованиям, предъявляемым к суппозиторным основам [7], а именно, консистенция оказалась мягкой и рыхлой при комнатной температуре, и данный вариант комплекса был исключен из исследования.

Таблица 1 - Различные варианты комплексов

Варианты	Состав основы	Внешний вид
1	желатин 25%, глицерин 45%, вода 30%	Гладкая, твердая, эластичная
2	желатин 18%, глицерин 40%, вода 42%,	Гладкая, менее твердая, эластичная
3	желатин 12,5%, глицерин 62,5%, вода 25%,	Рыхлая, шероховатая

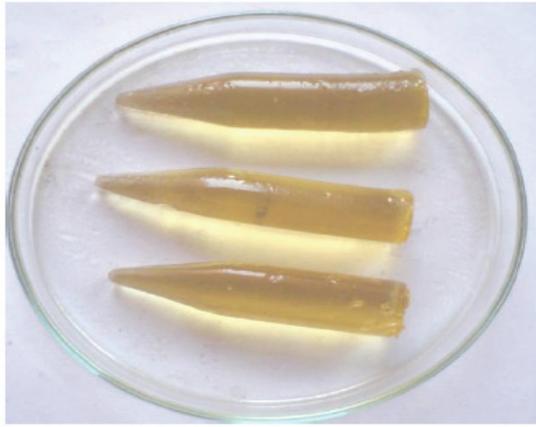


Рисунок 1 - Полученные суппозитории

Следующий этап заключался в иммобилизации лиофилизированных культур лактобактерий *L. salivarius* и *L. fermentum* на полученные основы. Далее проводился контроль по определению жизнеспособности лактобактерий, в созданных пробиотических комплексах после их иммобилизации. Количество живых клеток штаммов пробиотических культур в суппозиториях с концентрацией желатина 18% составило  $2,4 \cdot 10^8$  КОЕ/мл, а в варианте, где концентрация желатина достигала 25% мы наблюдали отсутствие роста лактобактерий. Поэтому исследования с вариантом 1 основы были прекращены.

Поэтому пробиотический комплекс, с соотношением компонентов - желатин 18% , глицерин 40%, вода 42%, содержащий  $2,4 \cdot 10^8$  КОЕ/мл живых лактобактерий был изучен на антагонистическую активность. Известно, что лечебное действие биопрепаратов основано на антагонистической активности лактобактерий в отношении патогенных и условно-патогенных бактерий [9].

Комплекс обладает высокой антагонистической активностью ко всем индикаторным штаммам, и в наибольшей степени к *Klebsiella ozaenae* (рисунок 2). Наиболее устойчивым к действию лактобактерий оказался клинический изолят *Candida albicans*. Штамм проявил нулевую степень активности.

В целях сравнения на рисунке 2 приводятся показатели антагонистической активности консорциума лактобактерий до нанесения на биологическую основу и после и его иммобилизации.

Как видно из графика, показатели антагонистической активности консорциума и иммобилизованного консорциума изменялись в отношении различных видов культур по-разному. Так, в отношении бактерий *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus* показатели антагонистической активности консорциума были 26 мм, 15 мм, 20 мм, 17 мм соответственно. После иммобилизации данные показатели возросли, и составили 48 мм, 23 мм, 55 мм, 23 мм. Зона задержки роста дрожжеподобных грибов *C. albicans* у консорциума составила 25 мм, у иммобилизованного — 0 мм. Что касается *Escherichia coli*, то здесь показатели ингибиции не изменились.

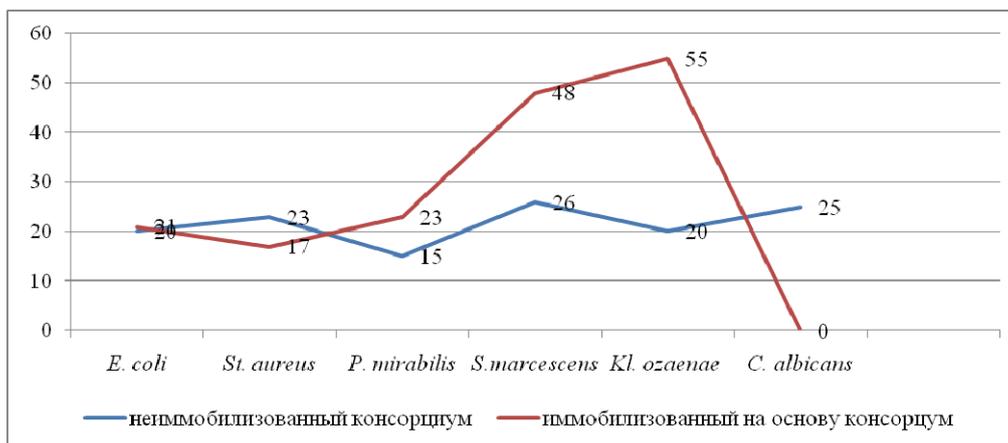


Рисунок 2 - Антагонистическая активность полученного комплекса

Итак, в результате проведенных нами исследований был разработан и предложен состав интравагинальных свечей на желатино-глицериновой основе с лиофилизированными культурами. При исследовании свечей на биологическую активность выявлено сохранение высоких титров жизнеспособных лактобактерий и антагонистической активности.

По данным G. Reid с соавторами для восстановления и сохранения нормальной урогенитальной флоры требуемая доза пробиотических лактобактерий составляет свыше  $10^8$  жизнеспособных организмов в день [10]. Известные и широко применяемые на фармацевтическом рынке свечи Ацилакт и Лактобактерин в одной суппозитории содержат не менее  $1 \cdot 10^{6-7}$  живых лактобактерий штаммов. Некоторые исследователи отмечают, что данные биопрепараты не всегда приводят к желаемому клиническому и терапевтическому эффекту, ввиду того, что входящие в состав препаратов лакто и бифидобактерии выделены из желудочно-кишечного тракта человека и при попадании в несвойственные ему условия обитания, в частности во влагалище, обладают низкой колонизацией [11]. Созданный нами пробиотический консорциум, выделен из влагалища клинически здоровых женщин и содержит  $2,4 \cdot 10^8$  КОЕ/мл живых лактобактерий. Полученный пробиотический комплекс перспективен в качестве нового лечебно-профилактического средства для восстановления нарушений нормальной микрофлоры влагалища женщин. На Казахском рынке данные препараты представлены в основном зарубежными производителями, что делает их терапевтическое применение для нашего населения довольно дорогостоящим. Поэтому данный комплекс, разработанный на основе симбиоза штаммов микроорганизмов наиболее физиологичных для казахстанцев, актуален.

#### Литература

1. Mardh, P.A. 1991. The vaginal ecosystem. Am. J. Obstet. Gynecol. 165: 1163-1168.
2. Angeles-Lopez, M., E.G.C Ramos & C.A. Santiago. 2001. Hydrogen peroxide production and resistance to nonoxinol-9 in *Lactobacillus* spp. isolated from the reproductive age women. Microbiologia 43: 171-176
3. Eschenbach, D.A. 1993. History and review of bacterial vaginosis. Am. J. Obstet. Gynecol. 169: 441-4454.
4. Bauer, G. 2001. *Lactobacillus* mediated control of vaginal cancer through specific reactive oxygen species interactions. Med. Hypotheses 57: 252-257.
5. Линева О.И. Оценка эффективности локального введения «Клиндамицина» у больных с бактериальным вагинозом и неспецифическим кольпитом / О.И. Линева, М.Е. Шляпников // Уральский мед. журнал. – 2004. – № 4. – С. 31–34.
6. Абрамович Р.А., Ларионова Е.В. Биофармацевтическое исследование вагинальных противогерпесных суппозиторий с аллизарином//Тез. докл. 7-го Российского нац конгресса «Человек и лекарство» - М.: РЦ «Фармединфо», 2000. - С. 59
7. Государственная фармакопея Республики Казахстан первое издание утверждена приказом Министра здравоохранения Республики Казахстан от 11 марта 2008 года № 131. Астана.
8. Дудикова Г.Н. Биотехнологические основы использования лактобацилл для защиты зернопродуктов от бактериальной контаминации: дис...докт. биол. наук. - Алматы, 2002. – 314 с.
9. Servin A.L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens //FEMS Microbiol. Lett. – 2004. – Vol. 28. – P. 405-440.

10. Г. Рейд, Дее Боэрман, Кристин Хайнэман, Эндрю В. Брюс Доза пробиотика *Lactobacillus*, требуемая для восстановления // ФЕМС Иммунология и медицинская микробиология. – 2001. - № 32. – С. 37.

11. В.Н. Прилепская, Г.Р. Байрамова. Нарушение микробиоценоза влагалища, пути его коррекции // ФГУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии Росмедтехнологий.

#### Түйін

Осы мақалада *L. salivarius* және *L. fermentum* лактобактерияларының лиофильді кептірілген культураларынан тұратын желатин - глицерин негізінде жасалған пробиотикалық қынаптық суппозиторияларды құру нәтижелері көрсетілген. Пробиотикалық кешеннің биологиялық белсенділігі *in vitro* зерттелген. Алынған биопрепарат әйелдер қынабының қалыпты микрофлорасының бұзылысын қалыпқа келтіруге арналған жаңа алдын алу және емдік препараты ретінде перспективті.

#### Summary

This article presents the results of the development of probiotic vaginal suppositories based on gelatin-glycerin, containing freeze-dried culture of lactobacillus *L. salivarius* and *L. fermentum*. Biological activity of a probiotic complex studied *in vitro*, and the resulting biological product is promising as a new therapeutic and prophylactic complex for restoring the normal microflora of a vagina of women.

УДК 582.288.42:577.152

Адманова Г.Б., Жанаманова Р.Н.

### ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Актюбинский государственный педагогический институт, *admanova @ mail.ru*  
ЗКГМУ им. М. Оспанова, г. Актөбе, Казахстан

Молочнокислые бактерии занимают особое место в жизни человека. Это связано с особенностями их метаболизма, продуктами которого является целый ряд веществ, играющих важную роль в обмене веществ и состоянии здоровья населения. Поэтому в мировой литературе последние годы все чаще обсуждаются вопросы уникальности свойств молочнокислых бактерий и открытия новых областей их применения в промышленности, сельском хозяйстве, ветеринарии и медицине. Действительно, если обратиться к истории данного вопроса, то очевиден многолетний опыт использования молочнокислых бактерий человеком [1].

Молочнокислые бактерии выделяются из различных источников как растительного, так и животного происхождения, которые имеют практическое значение среди множества микроорганизмов.

Степень изученности кисломолочных продуктов (особенно национальных) неодинакова. Кроме того, недостаточное внимание уделялось приуроченности микрофлоры молока и молочных продуктов к географическим зонам. В этом направлении имеются лишь единичные работы, посвященные главным образом молочнокислым бактериям [2].

Штаммы, обладающие специфическим антагонизмом, представляет значительный интерес при использовании их для формирования нормальной микрофлоры кишечного тракта с целью профилактики заболеваний [3, 4].

Антагонистические взаимоотношения микроорганизмов характеризуются тем, что один вид микробов тем или иным путем подавляет развитие или задерживает рост других микроорганизмов. При «активном» антагонизме угнетение роста или полное подавление жизнедеятельности одного вида микроба другим происходит в результате обогащения окружающей среды продуктами обмена, выделяемыми организмами при развитии. Однако при определенных концентрациях этих продуктов метаболизма организмы, их продуцирующие, могут развиваться свободно [5].

Не прекращаются исследования по совершенствованию заквасочных культур путем включения в их состав новых штаммов и создания новых ассоциаций молочнокислых бактерий. Однако, следует отметить необходимость выделения новых культур и изучения биологической активности в связи с изменением их свойств в зависимости от состояния экологической ситуации.