

сынамасы көрсеткішінің бірден жоғарылауы бауырдағы қабыну процестерінің айқын бейнесі болып табылады. ФП-ты CCl_4 енгізер алдында 100 мг/кг дозада беру арқылы бауырдағы гепатотоксикант әсерінен орын алатын қабынуды басады. Ал фитокомпозицияның 200 және 400 мг/кг тең концентрациялары бауыр паренхимасын гепатотоксиканттың бүлдіруші әсерінен қорғауға мүмкіндік туғызды.

ФП-тың *in vivo* жағдайындағы оптималды концентрациясын анықтау мақсатында жасалған тәжірибелер фитокомпозицияның 200 мг/кг тең концентрациясы – барлық зерттелген параметрлер тұрғысынан алғанда ұтымды болатынын дәлелдеді. Сондықтан да тәжірибелерде ФП-тың 200 мг/кг мөлшері алынды. Сонымен, қан сарысуы мен бауырдың микросомды фракцияларында билирубин мөлшерін және тимол сынамасының көрсеткіштерін анықтау нәтижелері, қалыпты жағдайда ФП қолдану гепатоциттерге қолайлы әсер етіп, бауырдың зақымдалуына алып келетін факторлардан қорғайды деп қорытынды жасауға толық мүмкіншілік бар.

Әдебиеттер

1. Гичев Ю.П. Печень: адаптация, экология // Новосибирск: Наука, 1993. – С. 152.
2. Коваленко В.Н., Бышовец Т.Ф., Воронина А.К. Индукция цитохрома Р-450 2Е1 в патогенезе токсического действия лекарств // Психофармакология и биологическая наркологи́я. - 2007. - Том 7. - №1.- С. 1730 -1731.
3. Churchman N. Ny's rule proven to detect drug-induced liver disease // *Hepatology*. – 2005. – Vol. 42. - № 2. – P. 481- 489.
4. Конь И.Я., Горгошидзе Л.Ш., Васильева О.Н., Кулакова С.Н. Витамин А и перекисное окисление липидов: влияние недостаточности ретинола // Биохимия. - 1986. - Т. 51.- № 1. - С. 70-75.

Резюме

Исследовано влияние фитопрепарата на функциональное состояние печени при интоксикации тетрахлорметаном. Определение показателей билирубина и тимоловой пробы в сыворотке крови и микросомальной фракции печени выявили, что фитопрепарат снижает повреждающее действие тетрахлорметана.

Summary

Influence of phytopreparat on functional state of hepar by intoxication carbon tetrachloride was investigated. Determination of bilirubin and timol test indicators in plasma and microsomal parts of hepar was defined that phytopreparat decrease damage action of carbon tetrachloride.

УДК 579:864.1:57.008.6:577.115

Ратникова И.А., Гаврилова Н.Н., Баякышова К. Ыбышева С.Д., Хворостов С.А. ОТБОР АКТИВНЫХ ВАРИАНТОВ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПО ВЫЖИВАЕМОСТИ И АДГЕЗИВНОЙ СПОСОБНОСТИ ПОСЛЕ СУБЛИМАЦИОННОГО ВЫСУШИВАНИЯ

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, iratnikova@almanet.kz

В своем развитии препараты пробиотиков прошли несколько этапов – от препаратов первого поколения, содержащих отдельные живые клетки бактерий нормальной микрофлоры человека или животных вместе со средой их выращивания (бифидумбактерин, лактобактерин), до препаратов нового поколения, так называемых мультипробиотиков – многокомпонентных средств, обладающих новыми лечебными свойствами и действующих более активно, чем препараты первой генерации. По сути, они представляют комплексы, в которых предлагаются различные сочетания пробиотических культур с пребиотиками (вещества, которые не перевариваются в кишечнике человека и способствуют росту и метаболической активности представителей нормофлоры), ферментами, иммуномодуляторами, витаминами и другими биологически активными добавками [1]. В комплексе механизмов колонизационной резистентности важную роль играет антагонистическая активность пробиотической культуры, ее способность колонизировать слизистую, которая складывается из адгезии микроорганизмов к эпителиальным клеткам

кишечника, конкуренции за рецепторы связывания и блокады адгезии и колонизации слизистых патогенными и условно-патогенными микробами с участием факторов как иммуноглобулиновой природы, так и неспецифических факторов защиты организма хозяина [2-8]. Недостаточно высокое качество пробиотических препаратов, содержащих жизнеспособные микробные клетки, часто бывает связано с нестандартностью их изготовления на всех этапах технологического процесса: культивирования, высушивания, дозирования герметизации, формы выпуска. Требуется оптимизация технологии культивирования производственных штаммов, позволяющая получать стандартные, полноценные по технологическим характеристикам препараты.

Материалы и методы исследований

Выделение наиболее активных вариантов по адгезивной способности производили из отобранных ранее вариантов каждой культуры с высокой антимикробной активностью. Варианты культур были высеваны на поверхность плотной питательной среды MRS из соответствующих разведений для получения отдельных колоний. Адгезивную активность определяли по методу Гизатулиной на эритроцитах крови человека [7].

При сублимационном высушивании отобранных вариантов молочнокислых бактерий в качестве защитной среды использовали сахарозу – 8,0% и желатин - 1,5%. Перед высушиванием рН культур устанавливали в пределах 6,0-6,5, добавляли в них защитные компоненты и разливали в пенициллиновые флаконы. Высушивание штаммов производили в сублимационной сушилке КС-30. Режим замораживания - -55°C в течение 6 ч. Режим досушивания $+25^{\circ}\text{C}$. Определение численности микроорганизмов проводили путем ряда последовательных разведений в стерильной водопроводной воде и высева их в агаризованную питательную среду с последующим подсчетом выросших колоний [8].

Повторность опытов трехкратная.

Результаты и их обсуждение

Определена адгезивная способность у отобранных вариантов культуры *L. cellobiosus* 34 после сублимационного высушивания. Установлено, что большинство из них не отличается по адгезивной способности от исходной культуры и имеет третью степень адгезии. У двух вариантов выявлена четвертая степень адгезии – 10 м и 15 м. Результаты высушивания микроорганизмов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Титры сухих препаратов из вариантов культуры *L. cellobiosus* 34, выделенных после сублимационного высушивания

№ варианта культуры	Титр бактерий, КОЕ/г	
	жидкой культуры	после высушивания % выживаемости
7м	$3,1 \times 10^9$	$8,9 \times 10^9$
8м	$4,0 \times 10^9$	$3,1 \times 10^9$
10м	$3,0 \times 10^9$	$1,1 \times 10^9$
11м,	$1,8 \times 10^9$	$3,4 \times 10^9$
12м,	$2,0 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$
13м	$2,1 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$
15м	$1,4 \times 10^9$	$7,2 \times 10^9$
16м	$3,1 \times 10^9$	$2,1 \times 10^9$
4к	$1,9 \times 10^9$	$1,9 \times 10^9$
7к	$2,0 \times 10^9$	$6,4 \times 10^9$
8к	$3,0 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$
9к	$5,0 \times 10^9$	$2,5 \times 10^9$
10к	$2,0 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$
11к	$1,1 \times 10^9$	$1,9 \times 10^9$
Исходный вариант	$2,5 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$

Как видно из представленной таблицы, лучше выживают при сублимационном высушивании варианты *L. cellobiosus* 34 – 7 м, 15 м и 7 к. Дальнейшие исследования проводили с 15 вариантами культуры *L. cellobiosus* 35: 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 25, 31, 32, 34, 35. Установлено, что отобранные варианты по адгезивной способности не отличаются от исходной культуры и имеют третью степень адгезии.

Сублимационное высушивание вариантов молочнокислых бактерий *L. cellobiosus* 35 проводили при том же режиме, что и *L. cellobiosus* 34. Результаты высушивания микроорганизмов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Титры сухих препаратов из вариантов культуры *L. cellobiosus* 35, выделенных после сублимационного высушивания

№ варианта культуры	Титр бактерий, КОЕ/г	
	жидкой культуры	после высушивания
7	2,1x10 ⁹	4,6x10 ⁹
13	4,1x10 ⁹	4,7x10 ⁹
14	2,2x10 ⁹	7,4x10 ⁹
15	3,1x10 ⁹	2,5x10 ⁹
16	5,3x10 ⁹	8,2x10 ⁹
18	2,0 x10 ⁹	6,4x10 ⁹
19	5,0x10 ⁹	2,5x10 ⁹
20	1,1x10 ⁹	2,9x10 ⁹
22	3,0x10 ⁹	9,1x10 ⁹
24	7,0x10 ⁹	1,3x10 ⁹
25	2,0x10 ⁹	1,9x10 ⁹
31	5,2x10 ⁹	2,8x10 ⁹
32	2,5x10 ⁹	1,5x10 ⁹
34	1,5x10 ⁹	1,9x10 ⁹
35	2,5x10 ⁹	2,4x10 ⁹
Исходный вариант	2,8x10 ⁹	1,9x10 ⁹

Как видно из представленной таблицы, сухие препараты с более высоким содержанием жизнеспособных бактериальных клеток получены из четырех вариантов *L. cellobiosus* 35 – 22, 16, 14 и 18. Определена адгезивная способность у 12 вариантов (6, 8, 12, 14, 15, 18, 20, 23, 25, 26, 28 и 30) культуры *L. cellobiosus* 45. Установлено, что они не отличается по адгезивной способности от исходной культуры и имеет третью степень адгезии. Результаты по выживаемости вариантов культуры *L. cellobiosus* 45 при сублимационном высушивании представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Титры сухих препаратов из вариантов культуры *L. cellobiosus* 45, выделенных после сублимационного высушивания

№ варианта культуры	Титр бактерий, КОЕ/г	
	жидкой культуры	после высушивания % выживаемости
6	2,0x10 ⁹	2,1x10 ⁹
8	4,0x10 ⁹	3,1x10 ⁹
12	3,5x10 ⁹	9,0x10 ⁹
14	1,9x10 ⁹	1,0x10 ⁹
15	1,3x10 ⁹	2,5x10 ⁹
18	2,4x10 ⁹	3,0x10 ⁹
20	4,0x10 ⁹	3,5x10 ⁹
23	2,5x10 ⁹	3,0x10 ⁹
25	4,3x10 ⁹	4,0x10 ⁹ ;
26	3,8 x10 ⁹	3,5x10 ⁹
28	1,4x10 ⁹	2,0x10 ⁹
30	2,6x10 ⁹	2,5x10 ⁹
Исходный вариант	4,0x10 ⁹	3,5x10 ⁹

Как видно из представленной таблицы, лучше выживает при сублимационном высушивании вариант *L. cellobiosus* 45 – 12. Для дальнейших исследований взято 12 вариантов (4, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 20, 21, 22) из *L. fermentum* 29. По адгезивной способности они не отличались от исходной культуры.

При сублимационном высушивании лучшим оказался вариант 6, превосходящий исходную культуру по выживаемости (таблица 4).

Таблица 4 – Титры сухих препаратов из вариантов культуры *L. fermentum* 29, выделенных после сублимационного высушивания

№ варианта культуры	Титр бактерий, КОЕ/г	
	жидкой культуры	после высушивания % выживаемости
4	1,9x10 ⁹	2,1x10 ⁹
6	4,0x10 ⁹	8,6x10 ⁹
7	4,3x10 ⁹	4,0x10 ⁹
10	1,4x10 ⁹	2,0x10 ⁹
11	1,1x10 ⁹	1,5x10 ⁹
12	2,0x10 ⁹	3,0x10 ⁹
13	2,8x10 ⁹	1,0x10 ⁹
15	1,5x10 ⁹	1,6x10 ⁹
16	3,8x10 ⁹	1,0x10 ⁹
20	2,6 x10 ⁹	3,0x10 ⁹
21	3,5x10 ⁹	3,3x10 ⁹
22	3,0x10 ⁹	1,5x10 ⁹
Исходный вариант	2,0x10 ⁹	6,0x10 ⁹

Высушенные препараты заложены на хранение в холодильнике. Через 6 месяцев хранения снижения титра бактерий не установлено.

Таким образом, отобранные по антагонистической активности варианты из сублимационно высушенных культур *L. cellobiosus* 34 и 35, 45 и *L. fermentum* 29 сохраняли исходную адгезивную способность, а у *L. cellobiosus* 34 – 10 м и 15 м выявлена четвертая степень адгезии. По устойчивости к сублимационному высушиванию отобраны варианты *L. cellobiosus* 34 – 7 м, 15 м и 7 к; *Lactobacillus cellobiosus* 35 – 22, 16, 14 и 18; *Lactobacillus cellobiosus* 45 – 12; *Lactobacillus fermentum* 29 – 6.

Отобранные варианты молочнокислых бактерий перспективны для включения в состав пробиотических препаратов.

Литература

- 1 Collins M.D., Gibson G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut // Am. J. Clin. Nutr. 1999. - Vol. 69. - № 5. - P. 1052-1057.
2. Бондаренко В.М., Воробьев А.А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией // Журн. микробиол. - 2004. - № 1. - С. 84-92.
3. Бондаренко В.М., Чуприна Р.П., Воробьева М.А. Механизм действия пробиотических препаратов // Биопрепараты. - 2003. № 3. - С. 2-5.
4. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. – Москва, 2001. - Том 3. - С. 288.
5. Greene J.D., Klaenhammer T.R. Factors involved in adherence of lactobacilli to human Caco-2 cells // Appl. Environ. Microbiol. - 1994. - Vol. 60. - P. 4487-4494.
6. Lee Y.K., Lim C.Y., Teng W.L. et al. Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells and their competition with enterobacteria // Appl. Environ. Microbiol. 2000. Vol., 66(9):3692-3697.
7. Гизатулина С.С. и др. Изучение адгезивной способности грамотрицательных бактерий, выделенных от больных диареей // Сб. науч. тр. «Кишечные инфекции у детей». - М., 1986. - С. 106-110.
8. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. - М.: Изд-во МГУ, 1994. – 512 с.

Түйін

Сублимациялық жолмен кептірілген *Lactobacillus cellobiosus* 34, 35, 45 және *Lactobacillus fermentum* 29 культураларының адгезивтік қабілетіне және кептіруге тұрақтылығына байланысты ең қуатты нұсқаларына іріктеу жүргізілді.

Summary

The most active variants in terms of adhesive capacity and resistance to lyophilization were selected from lyophilized cultures of *Lactobacillus cellobiosus* 34 35, 45 and *Lactobacillus fermentum* 29.

УДК 579:576.8.06:658.7:664.761:63

Ремеле В.В.

КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ РАЗЛИЧНЫХ КУЛЬТУР КАЗАХСТАНА: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ИННОВАЦИОННОМ РАЗВИТИИ АПК

ТОО «КазНИИ переработки сельскохозяйственной продукции», г. Астана,
e-mail: microbiol_lab@mail.ru

Трудно переоценить роль и значение коллекций микроорганизмов в мировом пространстве. Микроорганизм – продуцент является основой любого процесса микробиологического синтеза. При этом широко используются микроорганизмы, отнесенные к различным таксономическим группам (бактериям, грибам, актиномицетам и др.) и существенно отличающимися друг от друга по морфологии, размерам клеток, потребности к ростовым факторам, способности ассимилировать различные субстраты. Поэтому не случайно проблема долгосрочного хранения микроорганизмов без утраты их свойств признана первостепенной во всех странах мира.

В мировой практике накоплением, хранением и распространением сведений о культурах микроорганизмов занимаются в 19 государствах, являющихся участниками Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов [1]. В рамках Международной ассоциации микробиологических обществ действует Всемирная федерация коллекций культур (ВФКК), объединяющая около 400 коллекций различных стран [2]. Многие коллекции получили статус международных организаций. К ним относятся CNCM (Франция), DSM (Германия), NCAIM (Венгрия), JFO (Япония), СВЗ (Нидерланды), ВКМ, ВКПМ, ВНИНА, ВНИИГенетика (Россия), ССАР, СМСС, ВСАСС, NCIB, NCTC, NCYC (Великобритания), ARS(NRR), ATCC, IVI (США) и это направление микробиологии занимает приоритетное положение [3]. В разных странах мира насчитывается свыше 500 коллекций. Коллекции микроорганизмов имеются во многих институтах Казахстана. Создана и функционирует Национальная коллекция микроорганизмов. Однако, нет достоверных данных о наличии коллекций микроорганизмов основных зерновых и других сельскохозяйственных культур, что обуславливает необходимость создания такой коллекции.

Цель – формирование, поддержание, развитие и изучение коллекции микроорганизмов зерновых, зернобобовых и масличных культур Казахстана как основы при разработке биопрепаратов для сельского хозяйства.

Материалы, объекты и методы исследований

Материал исследований – пробы зерновых, зернобобовых и масличных культур, а также почвы из различных регионов Казахстана, объекты – существующая коллекция микроорганизмов, методы – общепринятые в микробиологии и биотехнологии [4].

Исследования проводились в соответствии с разработанной блок-схемой, включающей 6 основных этапов (маточная культура гриба, исходная культура штамма, культивирование, температурный режим, изучение свойств, хранение) и 20 подэтапов (от изучения свойств штаммов до паспортизации).