

УДК 579.864.1:616.331

Донцова Т. А., асистент, Ямборко Г. В., асистент,
Іваниця В. О., д-р біол. наук, проф., зав. кафедрою
Одеський національний університет, кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65 026, Україна

ВПЛИВ АНТИБІОТИКІВ НА АДГЕЗІЮ БАКТЕРІЙ РОДУ *LACTOBACILLUS*

Вивчено вплив антибіотиків різного спектру дії на процес адгезії 7 штамів лактобацил, виділених з різних біотопів організму людини. Результати даного дослідження свідчать на користь можливості комплексного застосування антибіотикотерапії з препаратами, що містять живу культуру лактобактерій. З вивчених чотирьох антибіотиків лише еритроміцин суттєво впливав на індекс адгезії лактобактерій, знижуючи його в середньому на 38,7%. Ампіцилін, стрептоміцин та тетрациклін на індекс адгезії не впливали.

Ключові слова: лактобацили, адгезія, антибіотики.

Лактобацили є важливим компонентом нормальної мікробіоти людини. Вони продукують велику кількість протимікробних сполук, включаючи органічні кислоти, перекис водню і бактеріоцини [4, 5], і внаслідок цього відіграють дуже важливу роль у механізмах захисту шлунково-кишкового і урогенітального трактів від інвазії деяких патогенних мікроорганізмів [11]. Це було причиною вибору лактобактерій як основи для створення лікувально-профілактичних препаратів, що мають пробіотичні властивості.

В теперішній час застосовується значна кількість препаратів-пробіотиків, що містять ті або інші штами лактобактерій [1, 6]. Так, на основі *Lactobacillus acidophilus*, *L. fermentum*, *L. casei* розроблені продукти функціонального харчування, лікувально-профілактична дія яких пов'язана з пригніченням лактобактеріями патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Відзначають не тільки їх високу біологічну активність проти дисфункції кишечника, дихальної та сечостатевої систем, але й сприятливу дію, пов'язану з підвищенням імунітету і попередженням розвитку пухлин [9]. Так, лактобацили інгібують біосинтез грибом *Aspergillus flavus* афлотоксину, який індукує розвиток гепатокарцином.

Для селекції лактобацил з метою одержання пробіотичних препаратів велике значення мають адгезивні властивості лактобактерій [2]. Адже саме від цього в значній мірі залежить, чи колонізуватимуть бактерії епітеліальні поверхні макроорганізму.

Дуже часто при лікуванні різних дисбіотичних порушень застосовують антибіотикотерапію в поєднанні з пробіотичними препаратами [8, 10].

В зв'язку з цим метою даної роботи було вивчення адгезивності ряду штамів лактобактерій та визначення впливу антибіотиків на їх адгезію до клітин букального епітелію.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження провадили з 7 штамми лактобацил: *Lactobacillus gasseri* TL093c, *Lactobacillus delbrueckii* підвид *lactis* TL059a, *Lactobacillus acidophilus* UL011b, *Lactobacillus casei* підвид *casei* UL004, *Lactobacillus casei* підвид *casei* UL004a, *Lactobacillus fermentum* UL007 і *Lactobacillus johnsonii* La1, виділених з різних біотопів організму.

Вивчали дію чотирьох антибіотиків: ампіциліну, еритроміцину, стрептоміцину, тетрацикліну. Всі антибіотики додавали в трьох концентраціях: в мінімальній інгібуючій концентрації (МІК) і двох субінгібуючих (0,5 і 0,25 МІК). Для ампіциліну та стрептоміцину МІК дорівнювала 10 мкг/мл, для еритроміцину — 15 мкг/мл і для тетрацикліну — 30 мкг/мл.

Вплив антибіотиків на адгезію лактобактерій вивчали на моделі букального епітелію здорових людей. Клітини букального епітелію одержували безпосередньо перед початком досліду, знімаючи їх з поверхні слизової щік стерильним тампоном. Епітеліальні клітини суспендували в фізіологічному розчині (рН 7,2) і тричі відмивали від сторонніх мікроорганізмів центрифугуванням протягом 10 хвилин.

Брали рівні об'єми (по 2 мл) суспензій букальних клітин і лактобактерій однакової оптичної щільності (5 одиниць за стандартом мутності), перемішували і інкубували при температурі 37 градусів у термостаті на протязі 3-х годин. Букальні клітини відмивали центрифугуванням тричі: із осаду готували мазки, фіксували етанолом і забарвлювали за Грамом.

Оцінку адгезивних властивостей кожної культури провадили за допомогою індексу адгезії — середньої кількості бактерій, прикріплених до однієї епітеліальної клітини (підраховували кількість мікробів, що прикріплювались до 40 епітеліоцитів).

Для вивчення впливу антибіотиків визначали індекс адгезії при відсутності антибіотика (контрольний дослід) і за наявності різних його концентрацій — 1; 0,5; 0,25 МІК. МІК встановлювали індивідуально для кожного штаму, використаному в роботі. Життєдіяльність лактобактерій у присутності 1 МІК антибіотика визначали методом дозованого висіву на МРС-агар і підрахунку колоній, що виростили за 18—24 години.

В кожній серії дослідів визначали середнє арифметичне значення індексу адгезії і середнє квадратичне відхилення. Визначення достовірності результатів провадили за допомогою *t*-критерію Ст'юдента.

Результати дослідження

Результати дослідження показали, що всі використані в ході роботи штами проявили здатність прикріплюватися до поверхні епітеліоцитів. Оскільки на момент проведення досліду культури знаходились на початку стаціонарної фази, адгезивна активність мала досягати максимального рівня [7]. На цей момент у більшості клітин всі поверхневі структури остаточно сформовані. Таким чином, в даній роботі досліджували вплив антибіотиків на вже сформовані адгезини, а не на поверхневі структури бактерій у процесі їх утворення.

Дослідженням культурам були властиві різні рівні адгезивності: значення індексу

Індекс адгезії лактобактерій до клітин букального епітелію за дії різних антибіотиків

| Штам | Без антибіотиків | Стрептоміцин | | | Тетрациклін | | | Ампіцилін | | | Еритроміцин | | |
|--|------------------|--------------|----------|----------|-------------|----------|----------|-----------|----------|----------|-------------|----------|----------|
| | | 1,0 МІК | 0,5 МІК | 0,25 МІК | 1,0 МІК | 0,5 МІК | 0,25 МІК | 1,0 МІК | 0,5 МІК | 0,25 МІК | 1,0 МІК | 0,5 МІК | 0,25 МІК |
| <i>Lactobacillus gasseri</i> TL093c | 79,2±4,8 | 75,5±2,5 | 80,9±1,7 | 78,3±5,6 | 74,5±5,7 | 76,3±5,2 | 73,4±6,0 | 83,4±4,7 | 79,1±3,8 | 78,0±6,1 | 48,3±5,8 | 75,2±3,7 | 77,1±2,2 |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> підвид <i>lactis</i> TL059a | 45,3±8,6 | 44,3±3,2 | 43,4±5,8 | 47,1±2,7 | 39,8±7,1 | 40,1±2,7 | 42,8±5,2 | 43,5±1,7 | 44,5±5,9 | 46,4±5,8 | 29,4±8,2 | 39,8±1,3 | 44,5±4,6 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> UL011b | 51,0±2,3 | 53,4±11,3 | 49,1±8,0 | 53,4±3,4 | 42,2±3,7 | 45,0±1,8 | 44,1±3,3 | 50,9±2,8 | 49,8±4,4 | 52,1±1,6 | 36,6±3,6 | 46,7±2,2 | 49,8±3,6 |
| <i>Lactobacillus casei</i> підвид <i>casei</i> UL004 | 59,8±4,6 | 56,1±9,7 | 57,7±7,3 | 56,2±2,7 | 53,6±1,1 | 55,3±5,6 | 53,2±4,7 | 56,7±3,3 | 60,2±7,5 | 61,7±4,2 | 32,5±10,2 | 55,3±6,9 | 58,4±1,6 |
| <i>Lactobacillus casei</i> підвид <i>casei</i> UL004a | 58,7±2,2 | 53,7±6,5 | 60,1±9,5 | 56,8±6,1 | 51,7±5,1 | 53,1±3,3 | 55,9±7,1 | 59,8±4,4 | 57,1±1,4 | 56,6±7,2 | 33,6±9,3 | 54,6±4,6 | 58,3±3,7 |
| <i>Lactobacillus fermentum</i> UL007 | 48,6±3,7 | 51,0±3,5 | 47,8±4,1 | 44,1±9,0 | 37,1±3,1 | 42,9±8,4 | 41,7±6,9 | 46,3±6,1 | 47,4±9,4 | 49,7±3,6 | 29,0±5,5 | 43,8±7,0 | 45,2±3,7 |
| <i>Lactobacillus johnsonii</i> La1 | 69,5±5,4 | 65,4±9,8 | 67,5±9,6 | 66,7±1,8 | 58,0±8,3 | 60,1±7,8 | 61,8±8,5 | 65,2±7,7 | 71,8±1,6 | 65,2±9,1 | 42,4±1,5 | 63,1±3,3 | 64,9±6,9 |

адгезії, визначеного для кожного з штамів за відсутності антибіотиків, коливались, в межах від 45 до 79 бактеріальних клітин на 1 епітеліоцит. З метою одержання більш достовірних даних для дослідів відбирали штами з різною адгезивністю — як низько-, так і високоадгезивні. Результати оцінки ступеня адгезивності та визначення впливу різних антибіотиків на адгезивність лактобактерій представлені у таблиці 1.

Як видно з наведених даних, еритроміцин діяв тільки в концентрації 1 МІК, знижуючи значення індексу адгезії до $61,3 \pm 4,3$ % від контрольного, тобто зменшував адгезивність лактобактерій у середньому на 38,7 %. Субінгібуючі концентрації еритроміцину (0,5 і 0,25 МІК) не виявляли помітної дії на адгезивну активність досліджуваних штамів.

Антибіотик пеніцилінового ряду ампіцилін, а також стрептоміцин не призводили до помітної дії на адгезію навіть у найбільшій концентрації (1 МІК).

Тетрациклін у концентрації 1 МІК знижував середнє значення індексу адгезії до $85,9 \pm 3,2$ % від контрольного; в субінгібуючих концентраціях він, як і еритроміцин, не впливав на процес прикріплення лактобактерій.

Статистична обробка довела достовірність різниці між значеннями індексів адгезії (в процентах від контролю) за умов застосування еритроміцину в порівнянні з дією ампіциліну і стрептоміцину ($P < 0,05$). Вплив тетрацикліну не вдалося підтвердити статистично ($P > 0,05$). Таким чином, з чотирьох досліджених антибіотиків еритроміцин виявився єдиним, що помітно пригнічував процеси прикріплення лактобактерій.

Можливо, здатність еритроміцину зменшувати інтенсивність адгезії лактобактерій обумовлена зміною структури вже сформованих адгезинів лактобактерій, внаслідок чого зменшується їх спорідненість до поверхні мембран епітеліоцитів [5]. Проте це не можна вважати єдиною можливою причиною зниження адгезивності, оскільки порівняно високі концентрації (1 МІК) антибіотиків можуть не тільки впливати на побудову адгезинів, але й пригнічувати інші процеси в бактеріальній клітині. Бактерицидна дія антибіотиків у даному випадку виключається, тому що у дослідях використовували концентрації, за яких всі бактерії залишались живими.

Таким чином, проведені дослідження показали, що серед антибіотиків з різним механізмом дії (пеніцилінів, макролідів, аміноглікозидів і тетрациклінів) тільки еритроміцин впливав на процеси адгезії лактобактерій до букального епітелію. Пригнічуюча дія еритроміцину проявлялась за його концентрації не менш 1 МІК. Субінгібуючі концентрації застосованих антибіотиків не впливали на процеси адгезії лактобактерій.

Література

1. Бондаренко В. М., Рубакова Э. И., Лаврова В. А. Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1995. — № 4. — С. 19 — 24.
2. Брилис В. И. Адгезивные свойства лактобацилл. — М.: Агропромиздат, 1988. — 452 с.
3. Далин М. В., Фиш Н. Г. Адгезины микроорганизмов // Итоги науки и техники / ВИНТИ. Сер. Микробиология. — 1985. — № 16. — 106 с.
4. Квасников Е. И., Нестеренко О. А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. — М.: Наука, 1975. — 390 с.

5. Квасников Е. И., Григоров Ю. Г., Коваленко Н. К. Молочнокислые бактерии пищеварительного тракта и питание долгожителей Абхазии // Микробиол. журн. — 1984. — Т. 46, № 3. — С. 11-18.
6. Коваленко Н. К., Головач Т. Н., Немировская Л. Н. Коллекция молочнокислых бактерий и перспективы ее практического использования // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1994. — № 2. — С. 67-68.
7. Костокова Н. Н., Карась С. Р. Адгезивная активность дифтерийных штаммов в зависимости от особенностей вызываемого ими инфекционного процесса // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1991. — № 11. — С. 24-27.
8. Коршунов В. М., Кафарская Л. И., Володин Н. Н. Коррекция дисбиотических нарушений вагинальной микрофлоры с помощью препарата высокоадгезивных лактобактерий // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1990. — № 7. — С. 15-19.
9. Леванова Г. Ф., Кашиников С. Ю., Трошкина Д. Н. Регуляция биологических систем // Аутофлора человека в норме и патологии. — Горький: Наука, 1990. — С. 15-22.
10. Суслова Г. В., Кимова Э. Т. Антибиотически активные молочнокислые бактерии. — М.: Агропромиздат, 1989. — С. 36-40.
11. Dembele T., Obdrzalek V., Votava M. Inhibition of bacterial pathogens by lactobacilli // Bacteriology. — 1998. — № 3. — P. 395-401.

Донцова Т. А., Ямборко А. В., Иваниця В. А.

Одесский национальный университет, кафедра микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65 026, Украина

ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ НА АДГЕЗИЮ БАКТЕРИЙ РОДА *LACTOBACILLUS*

Резюме

Изучено действие антибиотиков разного спектра действия на процесс адгезии семи штаммов лактобацилл, выделенных из различных биотопов организма человека. Результаты данного исследования свидетельствуют в пользу возможности сочетанного применения антибиотикотерапии с препаратами, содержащими живую культуру лактобактерий. Из изученных четырех антибиотиков только эритромицин существенно влиял на индекс адгезии лактобактерий, снижая его в среднем на 38,7%. Ампицилин, стрептомицин и тетрациклин на индекс адгезии не влияли.

Ключевые слова: лактобациллы, адгезия, антибиотики.

Dontsova T. A., Yamborko A. V., Ivanitsa V. A.

Odessa National University, Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65 026, Ukraine

EFFECT OF ANTIBIOTICS ON ADHESION OF LACTOBACILLI

Summary

Effect of different spectrum antibiotics on adhesion of 7 Lactobacilli strain allocated from various biotopes of human organism has been investigated. The data of this investigation testify for the benefit of an opportunity of combined use of an antibiotic therapy with containing alive Lactobacilli culture drugs. Among all the investigated antibiotics only erythromycin essentially influenced the adhesion coefficient reducing it by 38,7%. Ampicillin, streptomycin and tetracycline did not influence the adhesion coefficient.

Key words: Lactobacilli, adhesion, antibiotics.