

## Експериментальні праці

УДК 576.8.095.38

*К.С. Огірчук, Н.К. Коваленко, О.А. Полтавська*

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Заболотного 154, Київ, МСП, Д03680, Україна*

### ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ, ІЗОЛЬОВАНИХ ВІД ЖІНОК СТАРШИХ ВІКОВИХ ГРУП

*Із вмісту дистального відділу кишкового тракту жінок старших вікових груп було виділено та ідентифіковано молочнокислі бактерії, вивчено їх біологічну активність. Встановлено, що найбільш активними антагоністами щодо умовно патогенних мікроорганізмів виявились молочнокислі бактерії видів *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. salivarius* var. *salivarius* та *Enterococcus faecium*. Показано, що адгезивні властивості досліджених культур, як і антибіотикорезистентність, мали штамову належність. Більшість штамів були високоадгезивними і не продукували гемолізину.*

*Ключові слова: молочнокислі бактерії, адгезія, гідрофобність, аутоагрегація, гемоліз, антибіотики.*

Молочнокислі бактерії (МКБ) належать до корисної мікрофлори людини та мають велике практичне значення в її життєдіяльності.

Відомо, що основною характерною рисою лактобактерій, за якою їх виділяють в окрему групу мікроорганізмів, є здатність утворювати в якості головного продукту бродіння молочну кислоту. Ферментація вуглеводів за типом молочнокислого бродіння, як правило, корелює з рядом інших ознак, спільних як для паличковидних, так і для кокових форм мікроорганізмів. МКБ нерухомі, не утворюють спор, каталазонегативні, позитивно фарбуються за Грамом, не утворюють пігмент, не відновлюють нітрати в нітрити. Роботи багатьох авторів вказують на те, що біологічні властивості МКБ багато у чому залежать від джерела виділення [2, 5]. Особливу увагу в літературі приділяють МКБ людей різних вікових груп. У той же час в літературі практично відсутні відомості про лактобактерії шлунково-кишкового тракту жінок у періоді постменопаузи, які страждають на остеопороз. У цьому плані великий інтерес становить дослідження видового складу МКБ травного тракту жінок старших вікових груп і визначення їх біологічних та пробіотичних властивостей.

**Матеріали і методи.** Об'єктами дослідження були 74 штами МКБ, виділені із вмісту дистального відділу кишкового тракту жінок старших вікових груп (50-80 років).

Для виділення та культивування лактобацил використовували середовище MRS (De Man, Rogosa, Sharpe medium) [1], для ентерококів – середовище «Ентерококагар» (Росія).

Визначення належності ізолятів до МКБ проводили за тинкторіальними, морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними ознаками, а саме: фарбування за Грамом, форма та розміри клітин, рухливість, наявність каталази та дихальних систем, здатність перетворювати нітрати в нітрити [10]. Для визначення належності паличкоподібних форм МКБ до роду *Lactobacillus* вивчали їх здатність рости за температури 15°C та 45°C, утворювати газ із глюкози та аміак із аргініну, а належність кокових форм до роду *Enterococcus* – визначали за здатністю відновлювати трифенілтетразолію хлорид, можливістю росту за температури 10°C та 45°C, в середовищі з 6,5 % NaCl та pH 9,6. Дослідження проводили за стандартними методиками.

Ідентифікацію найбільш антагоністично активних штамів до виду проводили за спектром ферментації вуглеводів. Для цього використовували тест-системи для ідентифікації мікроорганізмів API 50 CH та API 20Strep (Bio Merieux, Франція). Система передбачає визначення можливості зброджування 49 вуглеводів та їх похідних: гліцерин, еритрит, D-арабіноза, L-арабіноза, D-рибоза, D-ксилоза, L-ксилоза, D-адоніт, метил-β-D-ксилопіранозид, D-галактоза, D-глюкоза, D-фруктоза, D-маноза, L-сорбоза, L-рамноза, дульцит, інозит, D-маніт, D-сорбіт, метил-α-D-манопіранозид, метил-α-D-глюкопіранозид, N-ацетилглюкопіранозид,

© К.С. Огірчук, Н.К. Коваленко, О.А. Полтавська, 2013

амігдалін, арбутин, саліцин, D-целобіоза, D-мальтоза, D-лактоза, D-мелібіоза, цукроза, D-трегалоза, інулін, D-мелцитоза, D-рафіноза, крохмаль, глікоген, ксиліт, гентибіоза, D-тураноза, D-ліксоза, D-тагатоza, D-фукоза, L-фукоза, D-арабітол, L-арабітол, глюконат, 2-кетоглюконат, 5-кетоглюконат. Облік результатів проводили через 24 і 48 годин. Інтерпретацію результатів проводили за допомогою програми API-WEB (Professional).

Здатність бактерій до адгезії вивчали на клітинах букального епітелію людини. Добові культури центрифугували 5 хв при 3000 об/хв. Одержану біомасу ресуспендували в буфері PBS. Одержували суспензію бактерій, яка містила  $10^9$  КУО/мл за стандартом мутності McFarland. Зразок букального епітелію двічі відмивали центрифугуванням з буфером при 300 об/хв. Готували суспензію епітеліальних клітин у концентрації  $10^8$  КУО/мл. Одержані суспензії бактеріальних та епітеліальних клітин змішували у рівних об'ємах в мікропробірці та інкубували при температурі 37°C протягом 30 хв. Після закінчення експозиції клітини двічі промивали центрифугуванням в буфері PBS при 200 об/хв 5 хв. З осаду клітин готували мазки, фарбували за Грамом і підраховували кількість адгезованих до епітеліоцитів клітин. Визначали середній показник адгезії (СПА), а саме – середню кількість бактерій, що прикріпились до однієї епітеліальної клітини. Адгезивність вважалась нульовою при СПА = 0 - 1,0; низькою при СПА = 1,01 - 2,0; середньою – при 2,01 - 4,0 та високою – вище 4,0. Здатність клітин МКБ до аутоагрегації досліджували за методом [12]. Гідрофобність клітинної поверхні вивчали за методом [9]. Як гідрофобну фазу використовували гексан.

Дослідження антибіотикорезистентності бактеріальних культур проводили дискодифузійним методом із використанням стандартних дисків з антибіотиками виробництва НДЦФ (м. Санкт-Петербург, Росія). У роботі було використано 15 антимікробних препаратів із числа найбільш вживаних у медицині груп. Суспензію добової культури з густиною 0,5 за стандартом McFarland ( $1,5 \times 10^8$  КУО/мл) засівали газомом на поверхню агаризованого середовища MRS, розклали диски з антибіотиками та інкубували протягом 24 год при 37°C. Штами відносили до чутливих, помірно стійких або стійких за загальноприйнятими критеріями [11].

Гемолітичну активність вивчали щодо еритроцитів барана на агарі Колумбія з 5% баранячої крові (Bio Merieux, Франція).

Статистичний аналіз проводили, використовуючи пакети програм «Excel» та «STATISTICA10». Відмінності між величинами вважали достовірними при  $p \leq 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Із вмісту дистального відділу кишечника жінок старших вікових груп нами було виділено 74 штами молочнокислих бактерій: 32 штами - від здорових жінок і 42 – від хворих на остеопороз [3].

**Ідентифікація лактобацил.** За морфолого-культуральними ознаками 50% ізольованих штамів являли собою грамположитивні палички правильної форми і були віднесені нами до роду *Lactobacillus* (табл.1) [10].

**Фізіолого-біохімічні властивості штамів *Lactobacillus* sp., ізольованих від жінок старших вікових груп**

**Таблиця 1**

Кількість штамів	Фарбування за Грамом	Рухливість	Наявність			Ріст при t, °C		Здатність утворювати	
			Каталази	Нітрат-редуктази	цитохром-вмісних дихальних систем	15 °	45 °	аміак із аргініну	газ із глюкози
<i>Облігатно гетероферментативні</i>									
5	Г+	-	-	-	-	+	+	+	+
3	Г+	-	-	-	-	-	+	+	+
3	Г+	-	-	-	-	+	+	-	+
1	Г+	-	-	+	-	-	+	+	+
1	Г+	-	-	+	-	+	+	-	+
<i>Факультативно гетероферментативні</i>									
4	Г+	-	-	-	-	+	+	-	-
11	Г+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Облігатно гомоферментативні</i>									
6	Г+	-	-	-	-	-	+	-	-
3	Г+	-	-	-	-	-	+	+	-

Серед них 35,2% штамів проявили здатність утворювати газ із глюкози і віднесені нами до групи облигатно гетероферментативних лактобацил. Необхідно зазначити, що 2 штами цієї групи відновлювали нітрати у нітрити, що не характерно для більшості лактобацил, хоча в літературі зустрічаються поодинокі відомості про здатність лактобацил за відповідних умов продукувати нітратредуктазу [10]. Всі штами росли при 45°C, лише 4 з них не росли при 15°C, 9 штамів продукували аміак із аргініну.

До гомоферментативних лактобацил були віднесені 24,3% досліджених культур, які не утворювали газ із глюкози, росли за температури 45°C і не росли при 15°C, лише 3 штами цієї групи проявили здатність утворювати аміак із аргініну.

Інші 40,5% культур лактобацил, які не продукували газ із глюкози і росли за температури 15°C, були віднесені до факультативно-гетероферментативних. У 5 штамів спостерігався ріст при 45°C.

Ідентифікація кокових форм МКБ. Тридцять сім виділених штамів належали до молочнокислих коків (табл.2). Тридцять три (44,6% від загальної кількості виділених штамів) відновлювали трифенілтетразолію хлорид, росли за температури 10°C та 45°C, в середовищах з 6,5% NaCl та з рН 9,6. За цими ознаками їх можна віднести до роду *Enterococcus*. Лише 4 штами молочнокислих коків, виділених від хворих на остеопороз жінок віком 70 років, проявили проміжні властивості – у 3 штамів не спостерігався ріст при 10°C протягом 7 днів, а один штам виявився не здатним рости в середовищі з 6,5% NaCl та при 45°C.

Таблиця 2

Фізіолого-біохімічні властивості штамів *Enterococcus* sp.,  
ізольованих від жінок старших вікових груп

Кількість штамів	Фарбування за Грамом	Рухливість	Наявність			Ріст при t, °C		Ріст у середовищах з	
			каталази	нітратредуктази	цитохром-вмісних дихальних систем	10	45	6,5% NaCl	рН 9,6
33	Г+	-	-	-	-	+	+	+	+
1	Г+	-	-	-	-	+	-	-	+
3	Г+	-	-	-	-	-	+	+	+

Антагоністична активність. Відомо, що однією з найважливіших вимог до пробіотичних мікроорганізмів є здатність пригнічувати ріст умовно патогенних мікроорганізмів. Зважаючи на це, в ході попередніх досліджень нами було визначено антагоністичні властивості досліджуваних культур лактобактерій [4]. З них найсильнішу інгібуючу дію щодо умовно патогенних тест-культур проявили 6 штамів МКБ: 5 штамів *Lactobacillus* sp. і 1 штам *Enterococcus* sp.

Необхідно було визначити видову належність відібраних штамів лактобактерій. З цією метою вивчено здатність даних штамів зброджувати вуглеводні субстрати з використанням тест-систем API 50CH (Bio Merieux, Франція). За допомогою програмного забезпечення API WEB (Professional) було визначено видову приналежність штамів 38 та 157 до виду *Lactobacillus plantarum*, штамів 39 та 55 – до виду *Lactobacillus acidophilus*, а штаму 6 – до виду *Lactobacillus salivarius* var. *salivarius* з вірогідністю 96,6%. Тестування показало, що факультативно-гетероферментативні лактобацили здатні утилізувати більшу кількість субстратів, ніж гомоферментативні. Це пов'язано з тим, що вони мають два шляхи метаболізму вуглеводів – ферментація гексоз проходить гліколітичним шляхом, а пентоз – окиснювальним пентозофосфатним. Цим пояснюється здатність *L. plantarum* 38 та *L. plantarum* 157 ферментувати пентози – L-арабінозу і рибозу. Тільки дані штами зброджували меліцитозу, фуранозу і глюконат калію. Штам *L. salivarius* var. *salivarius* 6, на відміну від інших штамів, зброджував D-арабіт, але не утворював молочну кислоту з амігдаліна, ескуліна, саліцина, целобіози та гентіобіози. Здатністю засвоювати крохмаль володіє лише штам *L. acidophilus* 39, але йому не властиве зброджування трегалози. Штам *L. acidophilus* 55, на відміну від інших, засвоював тагатозу, але не здатен до ферментації лактози. Результати зброджування інших вуглеводних субстратів досліджуваними культурами лактобацил наведено у табл.3.

Таблиця 3

## Збродження вуглеводних субстратів штамами лактобацил (API-тестування)

Вид лактобацил	L-арабіноза	D-рибоза	L-рамноза	D-маніт	D-сорбіт	Амідалін	Арбутин	Ескулін	Саліцин	D-целобіоза	Метил- $\alpha$ D- маннопіранозид	D-лактоза	D-мелібіоза	D-трегалоза	D-мелцитоза	D-рафіноза	Амідон	Гентіобіоза	D-гураноза	D-тагатаза	D-арабіт	Калію глюконат
<i>L. salivarius</i> 6	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. plantarum</i> 38	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+
<i>L. plantarum</i> 157	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+
<i>L. acidophilus</i> 39	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>L. acidophilus</i> 55	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-

**Примітка.** Всі досліджені штами зброджують галактозу, глюкозу, фруктозу, маннозу, N-ацетилглюкозамін, мальтозу, цукрозу. Всі досліджені штами не зброджують гліцерин, еритритол, D-арабінозу, D- та L-ксилозу, адонітол, метил- $\beta$ D-ксилопіранозид, сорбозу, дульцитол, інозит, метил- $\alpha$ D-глюкопіранозид, інулін, глікоген, ксиліт, ліксозу, D- та L-фукозу, L-арабіт, 2- та 5-кетоглюконат калію.

Ідентифікація штаму *Enterococcus* sp. 74 до виду за допомогою тест-системи API 20 Strep показала його належність до виду *E. faecium* з вірогідністю 95,6%. Даний штам накопичував ацетоїн (реакція Фогес-Проскауера), мав  $\beta$ -глюкозидазну, піролідонілариломідазну, лейцин-амінопептидазну,  $\beta$ -галактозидазну активності, гідролізував гіпурову кислоту та аргінін, але не здатен продукувати  $\alpha$ -галактозидазу,  $\beta$ -глюкуронідазу та лужну фосфатазу. Штам *E. faecium* 74 зброджував арабінозу, рибозу, маніт, ескулін, лактозу, трегалозу, але не зброджував сорбіт, інулін, рафінозу, крохмаль, глікоген.

Таким чином, МКБ, ізольовані від жінок старшого віку здорових і хворих на остеопороз, ідентифіковано згідно з сучасними схемами. Вивчено морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні властивості, визначена їх антагоністична активність. У жінок хворих на остеопороз віком 70 років і старше виділено найбільша кількість облигатних гетероферментативних штамів лактобацил.

**Адгезивні властивості.** Важливим аспектом відбору пробіотичних штамів молочнокислих бактерій є їх здатність швидко колонізувати кишечник. Передумовою такої колонізації являються адгезивні властивості культур, завдяки яким МКБ прикріплюються до поверхні епітелію, що запобігає їх елімінації під дією кишкової перистальтики та забезпечує домінування в цій екосистемі. Найбільш висока адгезивна активність (табл. 4) виявлена у штамів *E. faecium* 74 (СПА=71,28 $\pm$ 6,24), *L. plantarum* 157 (СПА=37,74 $\pm$ 3,83), *L. salivarius* var. *salivarius* 6 (СПА=33,46 $\pm$ 2,07), *L. acidophilus* 55 (СПА=27,68 $\pm$ 2,97). Меншою мірою у штаму *L. plantarum* 38 (СПА=12,40 $\pm$ 1,39). А штам *L. acidophilus* 39 виявився середньо адгезивним (СПА=2,02 $\pm$ 0,34).

Таблиця 4

## Адгезивні властивості клітинної поверхні досліджених штамів МКБ

Штам	Адгезія (СПА)	Гідрофобність, %	Аутоагрегація, %
<i>L. acidophilus</i> 55	27,68 $\pm$ 2,97	65	17,5
<i>L. plantarum</i> 38	12,4 $\pm$ 1,39	85,1	22,4
<i>L. plantarum</i> 157	37,74 $\pm$ 3,83	5,4	9,7
<i>E. faecium</i> 74	71,28 $\pm$ 6,24	8,8	0
<i>L. acidophilus</i> 39	2,02 $\pm$ 0,34	18,6	10,5
<i>L. salivarius</i> var. <i>salivarius</i> 6	33,46 $\pm$ 2,07	74,6	8,7

**Аутоагрегація та гідрофобність.** Здатність до аутоагрегації пробіотичних штамів є невід’ємною умовою утворення біоплівки на поверхні кишкового епітелію, яка є ефективним бар’єром для колонізації кишечника патогенними мікроорганізмами. Високу ступінь аутоагрегації проявив *L. acidophilus* 55 (49%). Аутоагрегація інших штамів була меншою за 30%.

З літературних даних відомо, що на адгезію та аутоагрегацію бактерій можуть впливати такі фізико-хімічні характеристики клітинної поверхні, як гідрофобність / гідрофільність. Зокрема, деякими авторами [13] було показано, що присутність (гліко-) протеїнового матеріалу (проназа і пепсин-чутливі поверхневі молекули) на поверхні клітини призводить до більш високої гідрофобності, тоді як гідрофільність поверхні пов’язана з наявністю полісахаридів. При визначенні бактеріальної адгезії до гексану найбільш гідрофобними виявились штами *L. plantarum* 38 (85%), *L. salivarius* var. *salivarius* 6 (75%) та *L. acidophilus* 55 (65%).

**Антибіотикорезистентність.** Чутливість до антибіотиків є однією з вимог безпеки потенційно пробіотичних штамів лактобактерій, оскільки МКБ-носії генів антибіотикорезистентності можуть бути здатні до горизонтального переносу цих генів до інших мікроорганізмів, особливо патогенних, присутніх у ШКТ людини [7].

Зазвичай молочнокислі бактерії проявляють чутливість до антибіотиків - інгібіторів синтезу клітинної стінки таких як пеніциліни та цефалоспорини [6]. Пеніцилін-чутливі штами лактобацил та ентерококів виділяють з молочнокислих продуктів, пробіотичних препаратів, кишкового людини та тварин, але поряд із цим знайдено пеніцилін-резистентні штами серед видів *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. plantarum* [14]. Більшість досліджених нами штамів (табл. 5) були чутливими до дії пеніцилінів, а стійкість до цефалоспоринів різнилась в межах штаму. Так, *L. plantarum* 157 виявився помірно стійким до пеніциліну та цефазоліну, а *L. salivarius* var. *salivarius* 6 – до цефазоліну. *E. faecium* 74 підтвердив природну стійкість до цефалоспоринів притаманну ентерококам [7].

Таблиця 5

**Чутливість досліджених штамів лактобактерій до антибіотиків**

Антимікробні препарати	Штами МКБ					
	<i>L. salivarius</i> var. <i>salivarius</i> 6	<i>L. plantarum</i> 38	<i>L. plantarum</i> 157	<i>E. faecium</i> 74	<i>L. acidophilus</i> 55	<i>L. acidophilus</i> 39
<b>Інгібітори синтезу клітинної стінки</b>						
Пеніцилін	Ч	Ч	П	Ч	Ч	Ч
Ампіцилін	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч
Імпінем	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч
Цефазолін	П	Ч	П	П	Ч	Ч
Цефтріаксон	Ч	Ч	Ч	П	Ч	Ч
Ванкоміцин	П	С	С	П	Ч	Ч
<b>Інгібітори синтезу протеїнів</b>						
Стрептоміцин	С	С	С	С	Ч	Ч
Гентаміцин	С	Ч	Ч	С	С	Ч
Тетрациклін	П	П	П	Ч	Ч	Ч
Доксициклін	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч
Еритроміцин	Ч	Ч	Ч	П	Ч	Ч
Лінкоміцин	П	П	П	П	Ч	Ч
Левоміцетин	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч
<b>Інгібітори синтезу нуклеїнових кислот</b>						
Ципрофлоксацин	С	С	С	П	С	С
<b>Інгібітори функцій цитоплазматичної мембрани</b>						
Поліміксин	С	С	С	С	С	С

**П р и м і т к а.** С- стійкі; П- помірно стійкі; Ч- чутливі

З літературних даних відомо, що резистентність до ванкоміцину і загалом до глікопептидів дуже розповсюджена серед видів *Lactobacillus* і описується як природна. Однак, існує

припущення, що вона не може бути внутрішньою ознакою виду, оскільки показана мінливість серед штамів *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. crispatus* [14]. Серед досліджених нами штамів лактобацил *L. plantarum* 157 та 38 і *L. salivarius* var. *salivarius* 6 виявили стійкість, а штами *L. acidophilus* 55 та 39 навпаки, виявили чутливість до дії ванкомицину, що підтверджує результати, отримані N. Belletti (2009) [8]. На відміну від лактобацил, у ентерококів ген стійкості до ванкомицину *vanA* може знаходитись на плазмідах, що являє собою ризик горизонтального поширення резистентних генів серед інших представників кишкової мікрофлори [15]. Штам *E. faecium* 74 виявив помірну стійкість до ванкомицину, що обмежує його використання як пробіотичного штаму.

Чутливість досліджуваних штамів лактобактерій до антибіотиків групи інгібіторів синтезу протеїнів мала штамову належність. Стійкими до дії аміноглікозидів (стрептоміцину та гентаміцину) виявились штами *E. faecium* 74 та *L. salivarius* var. *salivarius* 6, а чутливим – штам *L. acidophilus* 39. Обидва штами *L. plantarum* були резистентні лише до дії стрептоміцину, а *L. acidophilus* 55 навпаки, був чутливим до стрептоміцину і резистентним до гентаміцину. Показано чутливість всіх досліджених штамів до хлорамфеніколу, еритроміцину (окрім штаму *E. faecium* 74) та доксицикліну. Помірно стійкими до тетрацикліну та лінкоміцину виявились штами *L. salivarius* var. *salivarius* 6 та обидва штами *L. plantarum*.

Таким чином, отримані результати показали полірезистентність до антибіотиків досліджених штамів. Для можливості їх використання як пробіотичних існує необхідність більш детального вивчення природи такої стійкості до антибіотиків для виключення можливості горизонтального переносу генів резистентності. Особливо це стосується штаму *E. faecium* 74, стійкого до 9 антимікробних препаратів, оскільки зафіксовано багато випадків горизонтального трансферу генів резистентності за участю плазмід ентерококів [7].

Гемолітична активність. Окрім відношення до антимікробних препаратів, з метою вивчення безпечності виділених штамів, була досліджена їх гемолітична активність. Встановлено, що культури *L. acidophilus* 55, *E. faecium* 74 та *L. plantarum* 38 не проявляють гемолітичної активності, а навколо колоній лактобацил *L. plantarum* 157 та *L. salivarius* var. *salivarius* 6 спостерігались зони  $\alpha$ -гемолізу, що може бути обумовлено не продукцією гемолізинів, а надмірним виділенням в середовище таких продуктів метаболізму досліджуваних штамів, як органічні кислоти та перекис водню.

Таким чином, проведено ідентифікацію до роду 74 штамів МКБ за морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними властивостями. Серед них 37 штамів віднесено до роду *Lactobacillus*, а інші штами – до роду *Enterococcus*. Показано, що найбільш антагоністично-активні молочнокислі бактерії були представлені видами *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. salivarius* var. *salivarius* та *E. faecium*. Серед досліджених штамів лише *L. acidophilus* 55 та *L. plantarum* 38 найбільш чітко відповідають вимогам ВООЗ до пробіотиків.

**Е.С. Огирчук, Н.К. Коваленко, О.А. Полтавская**

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины,  
ул. Академика Заболотного 154, 03680 Киев*

## **ИДЕНТИФИКАЦИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЖЕНЩИН СТАРШИХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП**

### **Резюме**

Из содержимого дистального отдела кишечника женщин старших возрастных групп были выделены и идентифицированы молочнокислые бактерии, изучена их биологическая активность. Установлено, что наиболее активными антагонистами по отношению к условно патогенным микроорганизмам оказались молочнокислые бактерии видов *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. salivarius* var. *salivarius* и *Enterococcus faecium*. Показано, что адгезивные свойства исследуемых культур, как и антибиотикорезистентность, имели штаммовую специфичность. Большинство штаммов были высокоадгезивными и не продуцировали гемолизин.

К л ю ч е в ы е с л о в а: молочнокислые бактерии, адгезия, гидрофобность, аутоагрегация, гемолиз, антибиотики.

**K.S. Ogirchuk, N.K. Kovalenko, O.A. Poltavska**

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

## **IDENTIFICATION AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA, ISOLATED FROM OLDER WOMEN**

### **S u m m a r y**

The strains of lactic acid bacteria have been isolated from the intestine of older women. These strains were identified and their biological activity was studied. It has been established that *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. salivarius* var. *salivarius* and *Enterococcus faecium* had the highest antagonistic activity against opportunistic microorganisms. It has been revealed, that the adhesive properties and antibiotic resistance of the tested cultures had strain specificity. Most of the isolates were highly adhesive and did not produce hemolysins.

The paper is presented in Ukrainian.

**K e y w o r d s:** lactic acid bacteria, adhesion, hydrophobicity, autoaggregation, hemolysis, antibiotics.

**T h e a u t h o r ' s a d d r e s s:** *Ogirchuk K.S., Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.*

1. *Квасников Е.П., Нестеренко О.А.* Молочнокислые бактерии и пути их использования. – Москва: Наука, 1975. – 384 с.
2. *Коваленко Н.К.* Биология молочнокислых бактерий пищеварительного тракта человека и животных: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Киев, 1991. – 29 с.
3. *Коваленко Н.К., Огірчук К.С., Полтавська О.А., Поворознюк В.В., Дзерович Н.І.* Мікробіоценоз кишечника та харчування жінок старшого віку здорових і хворих на остеопороз // *Мікробіол. журн.* – 2012. – **74**, № 4. – С. 57–63.
4. *Огірчук К.С., Полтавська О.А., Коваленко Н.К.* Антагоністичні властивості молочнокислих бактерій, виділених від жінок практично здорових та хворих на остеопороз // Там само. – 2013. – **75**, № 1. – С. 21–27.
5. *Полтавська О.А., Коваленко Н.К.* Антагоністичні властивості біфідобактерій, ізольованих із різних природних джерел // Там само. — 2005. – **67**, № 6. – С. 32–39.
6. *Ammor M.S., Belen Florez A., Mayo B.* Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria // *Food Microbiol.* – 2007. – **24**. – С. 559–570.
7. *Ashraf R., Shah N.* Antibiotic resistance of probiotic organisms and safety of probiotic dairy products // *International Food Research J.* – 2011. – **18**, N 3. – С. 837–853.
8. *Belletti N., Gatti M., Bottari B., Neviani E., Tabanelli G., Gardini F.* Antibiotic resistance of *Lactobacilli* isolated from two Italian hard cheeses // *J. Food Prot.* – 2009. – **72**, N 10. – С. 2162–2169.
9. *Bellon-Fontaine M.N., Rault J., van Oss C.J.* Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid–base properties of microbial cells // *Colloids Surf.* – 1996. – N 7. – С. 47–53.
10. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, eighth edition, Vol. 2. – Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 1986. – С. 1209–1234.
11. *Charteris W.P., Kelly P.M., Morelli L., Collins J.K.* Effect of conjugated bile salts on antibiotic susceptibility of bile salt-tolerant *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* isolates // *J. Food Prot.* – 2000. – **63**, N 10. – С. 1369–1376.
12. *Del Re B., Sgorbati B., Miglioli M.D.*, Adhesion and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum* // *Lett. Appl. Microbiol.* – 2000. – N 31. – С. 438–442.
13. *Kos B., Suskovic J., Vukovic S., Simpraga M., Frece J., Matosic S.* Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92 // *J. Applied Microbiology.* – 2003. – N 94. – С. 981–987.
14. *Temmerman R., Pot B., Huys G., Swings J.* Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products // *Int. J. Food Microbiol.* – 2003. – № 81. – С. 1–10.
15. *Toomy N., Bolton D., Fanning S.* Characterisation and transferability of antibiotic resistance genes from lactic acid bacteria isolated from Irish pork and beef abattoirs // *Research in Microbiology.* – 2010. – **161**. – № 2. – С. 127–135.

Отримано 11.05.2013