

DOI 10.31718/2077-1096.20.2.129

УДК: 615.372:[579.864.1+579.873.13]:576.524

Книш О.В., Колпак С.А., Погоріла М.С., Бабич Є.М.

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ ЗА ВПЛИВУ БЕЗКЛІТИННИХ ЕКСТРАКТІВ *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM* 1 ТА *LACTOBACILLUS REUTERI* DSM 17938

Державна установа «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України», м. Харків

Підвищення адгезивного потенціалу пробіотичних бактерій з одного боку та ослаблення адгезивної здатності патобіонтів з іншого – патогенетично обґрунтований підхід до боротьби з інфекційними захворюваннями та дисбіозами кишечника. Останнім часом постбіотичні продукти вважають одними з найбільш перспективних засобів впливу на мікробіоту кишечника. Метою роботи було дослідити вплив безклітинних екстрактів, що містять деривати *Bifidobacterium bifidum* 1 та *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, на адгезивні властивості пробіотичних (*L. reuteri* DSM 17938 і *B. bifidum* 1) та умовно-патогенних бактерій (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 і *Escherichia coli* ATCC 25922). Досліджено чотири безклітинних екстракта: L – з дезінтеграту *L. reuteri*; ML – з культури *L. reuteri*, що культивувалася у власному дезінтеграті; B – з дезінтеграту *B. bifidum*; MB – з культури *B. bifidum*, що культивувалася у власному дезінтеграті. Дослідження адгезивних властивостей мікроорганізмів за впливу екстрактів проводили за методом Бріліс. Встановлено, що екстракти ML, MB та B здатні значно підвищувати адгезивний потенціал *B. bifidum* та *L. reuteri*. За їх впливу індекс адгезії мікроорганізмів, розрахований для біфідобактерій, збільшувався на 41,1 % (ML), 41,5 % (MB) та 50,6 % (B), а розрахований для лактобактерій збільшувався на 30,77 % (ML), 44,45 % (MB) та 44,97 % (B). Обидві дослідні пробіотичні бактерії із категорії «середньоадгезивних» переходили в категорію «високоадгезивних» з індексом адгезії мікроорганізмів > 4,0. Лактобактерії «високоадгезивними» ставали також за впливу екстракту L, при цьому індекс адгезії мікроорганізмів підвищувався на 37,9 %. Серед досліджених лише екстракт L спричиняв достовірне підвищення індексу адгезії тест-культури *S. aureus*. Решта екстрактів викликали незначні зміни адгезивного потенціалу тест-культур. За їх впливу спостерігалася тенденція до підвищення або зниження адгезивної здатності бактерій. Екстракт MB спричиняв перехід тест-культури *S. aureus* з категорії «високоадгезивних» в категорію «середньоадгезивних», а тест-культури *E. coli* – з категорії «середньоадгезивних» в категорію «низькоадгезивних». Отримані дані будуть враховані при розробці нових метабіотиків на основі дериватів пробіотичних штамів *B. bifidum* 1 та *L. reuteri* DSM 17938.

Ключові слова: адгезія; безклітинні екстракти; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Bifidobacterium bifidum*; *Lactobacillus reuteri*.

Дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи: «Мікробіологічна характеристика нових структурно-метаболічних комплексів лакто- та біфідопробіотиків», державна реєстрація № 0119U100686.

Вступ

Адгезивні властивості пробіотичних бактерій визначають їх здатність до колонізації шлунково-кишкового тракту та реалізації пробіотичної дії, яка полягає в антагоністичній активності по відношенню до потенційних патогенів, зміцненні кишкового бар'єру, імуномодуляції та нормалізації обмінних процесів [5, 11, 13, 16]. Достатня адгезивна здатність є запорукою успішної конкурентної боротьби «корисних» бактерій з потенційними патогенами за місця прикріплення на слизовій оболонці та блокування доступу патогенів до цих структур [6, 14]. Вона визначає ефективність взаємодії бактерій з епітеліальними, дендритними клітинами, моноцитами, макрофагами та іншими імунними клітинами, а також сприяє збільшенню часу проходження пробіотичного мікроорганізму через шлунково-кишковий тракт, а отже – оптимальній реалізації його корисних ефектів [2, 5, 16, 17]. Здатність пробіотиків до адгезії є видо- і штамоспецифічною [2, 16].

Ключовим етапом розвитку інфекційного процесу є адгезія потенційного патогену до тканин макроорганізму. Високі адгезивні властивості мікроорганізму забезпечують йому достатню ко-

лонізаційну здатність та виживання в умовах антагоністичних відносин з «корисною» мікрофлорою та дії захисних чинників місцевого імунітету слизових оболонок [1]. Пробіотичні штами можуть протидіяти потенційним патогенам в кишечнику шляхом залучення різних механізмів, серед яких основними є: конкуренція за місця адгезії та джерела живлення, модуляція імунної відповіді, зменшення рН середовища шляхом продукування органічних кислот та синтез специфічних білків з протимікробною активністю [6]. Лакто- і біфідобактерії, як і решта коменсальних бактерій, використовують ті ж механізми прикріплення, що і патогенні мікроорганізми, бо несуть на своїх поверхнях подібні адгезини: молекули ліпотейхоєвих кислот, полісахариди, поверхневі білки та лектиноподібні молекули [10, 16]. Але виявлені відмінності структури поверхневих адгезинів молочнокислих бактерій від адгезинів інших видів бактерій [13]. Тонкі структурні відмінності поверхневих макромолекул (МАМП, мікроорганізм-асоційованих молекулярних патернів) зумовлюють відмінності їх взаємодії з ПРР (патерн-розпізнавальних рецепторів) і потенційними корецепторами. Це означає, що поверхнева макромолекула одного виду може бути агоні-

стом певного PPR, в той час як подібна макромолекула іншого виду – його антагоністом [10]. Пробиотичні мікроорганізми перешкоджають адгезії патобіонтів та патогенів до поверхні кишечника не лише шляхом конкуренції за поверхневі рецептори хазяїна, але й шляхом продукції антиадгезивних речовин або сполук [6, 12]. Ступінь пригнічення адгезії потенційних патогенів пробиотичними клітинами до епітелію кишечника залежить від штаму пробіотика і патобіонта, а також від методу оцінки, що використовується в експерименті [6, 14, 16].

Підвищення адгезивного потенціалу пробиотичних бактерій з одного боку і зниження адгезивної здатності патобіонтів з іншого – патогенетично обґрунтований підхід до боротьби з інфекційними захворюваннями та дисбіозами кишечника. Зважаючи на те, що реалізація більшості корисних ефектів пробиотичних бактерій забезпечується їх структурними компонентами та метаболітами, великі сподівання як на засоби боротьби з дисбіотичними порушеннями покладені саме на них. Застосування біологічно активних дериватів у складі безклітинних пробиотичних продуктів покликано вирішити проблему небажаних ефектів і недостатньої ефективності клітинних пробіотиків [4, 15]. Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що безклітинні екстракти, отримані шляхом дезінтеграції пробиотичних бактерій термоциклюванням з наступним культивуванням у власних дезінтегратах, здатні стимулювати проліферацію і біоплівкоутворення пробиотичних бактерій та пригнічувати ріст потенційних патогенів [7, 8, 9].

Мета дослідження

Дослідити вплив безклітинних екстрактів, що містять деривати *Bifidobacterium bifidum* 1 та *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, на адгезивні властивості пробиотичних та умовно-патогенних бактерій.

Матеріали та методи дослідження

Безклітинні екстракти (БКЕ) одержували з пробиотичних штамів *B. bifidum* 1 («Біфідумбактерин», ТОВ «Віво-Актив», Україна) та *L. reuteri* DSM 17938 («БіоГая», BioGaia Production AB, Швеція), застосовуючи методику, описану раніше [9]. Досліджено здатність впливати на адгезію чотирьох видів БКЕ з пробиотичних бактерій: L – екстракт з дезінтеграту *L. reuteri*; ML – екстракт з культури *L. reuteri*, що культивувалася у дезінтеграті власних клітин; B – екстракт з дезінтеграту *B. bifidum*; MB – екстракт з культури *B. bifidum*, що культивувалася у дезінтеграті власних клітин.

Дослідження адгезивних властивостей пробиотичних та умовно-патогенних мікроорганізмів за впливу БКЕ проводили за методом Бріліс зі співавторами [3]. Як тест-культури використовували пробиотичні штами: *L. reuteri* DSM 17938 і *B. bifidum* 1 та референтні штами умовно-

патогенних мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 і *Escherichia coli* ATCC 25922. Процес адгезії мікроорганізмів досліджували на формалінізованих еритроцитах людини (за концентрації 10^8 /мл) 0 (I) групи крові, Rh (+). Концентрація мікробних клітин складала 10^9 КУО/мл. В дослідні пробірки вносили по 0,5 мл суспензій еритроцитів і бактерій та 0,25 мл БКЕ. Пробірки з контрольними зразками замість БКЕ містили стерильний розчин фосфатного буфера. Дослідні і контрольні пробірки інкубували протягом 30 хвилин у термостаті при 37 °С. Після завершення експозиції еритроцити двічі відмивали фосфатно-сольовим буфером шляхом центрифугування суспензії протягом 5 хв при 1 000 g для видалення неадгезованих бактеріальних клітин. З кожного зразка готували мазки на предметному склі, висушували на повітрі, фіксували за Май-Грюнвальдом та фарбували за Романовським-Гімзою. Мікроскопію препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа Біолам (ЛОМО, РФ) з окуляром 40 × та іммерсійним об'єктивом 90 ×. Визначення показників процесу адгезії проводили на основі вивчення не менше 100 еритроцитів у 10 полях зору. Для оцінки адгезивної здатності дослідних мікроорганізмів за впливу БКЕ використовували наступні показники:

- середній показник адгезії (СПА) – середня кількість мікроорганізмів, які прикріпилися до поверхні одного еритроцита з урахуванням усіх підрахованих еритроцитів у 10 полях зору, але не менше 100 еритроцитів;
- коефіцієнт адгезії (КА) – відношення кількості еритроцитів з адгезованими на поверхні бактеріями до загальної кількості підрахованих еритроцитів, виражене у відсотках;
- індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) – середня кількість бактерій, які беруть участь у адгезивному процесі. Показник розрахову-

$$\text{ІАМ} = \frac{\text{СПА}}{\text{КА}} \times 100$$

вали за формулою:

За ІАМ дослідні бактерії визначали як: неадгезивні (ІАМ < 1,75), низькоадгезивні (ІАМ = 1,76 – 2,5), середньоадгезивні (ІАМ = 2,51 – 4,0), високоадгезивні (ІАМ > 4,0). При оцінці змін показників адгезивного потенціалу бактерій за впливу БКЕ значною вважали різницю між показниками дослідів і контролю у 20 % і більше.

Експерименти проводили тричі. Отримані дані виражали як середні арифметичні зі стандартним відхиленням ($\bar{x} \pm SD$), піддавали статистичній обробці з використанням програми Microsoft Excel 2003. Проводили однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) з наступним множинним порівнянням із застосуванням корекції Бонферроні. Значущими відмінності вважали при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

За середньою кількістю мікроорганізмів, що брали участь в адгезивному процесі, біфідобак-

терії і лактобактерії були віднесені до категорії «середньоадгезивні». Розраховані для них ІАМ становили $3,3 \pm 0,18$ (*B. bifidum*) та $3,8 \pm 0,19$ (*L. reuteri*) (табл. 1). Введення БКЕ L до середовища інкубації біфідобактерій з еритроцитами супроводжувалося незначним підвищенням СПА (на 17,9 %) та ІАМ (на 8,2 %). Значне підвищення СПА спостерігалось в присутності решти БКЕ: на 43,6 % (МВ); на 49,5 % (МЛ) та на 59,6 % (В). За впливу зазначених екстрактів виявилось також істотне підвищення ІАМ: на 41,1 % (МЛ); 41,5 % (МВ) та 50,6 % (В). Жоден з екстрактів не викликав суттєвих змін КА (відсоток еритроцитів з адгезованими бактеріями).

При введенні БКЕ в середовище інкубації ла-

ктобактерій з еритроцитами КА підвищувався на 6 – 14 %. СПА за впливу БКЕ збільшувався значно більше: на 45,37 % (МЛ); 46,8 % (L); 56 % (МВ) та 65,74 % (В). Також спостерігалось статистично значуще збільшення ІАМ за присутності БКЕ: на 30,77 % (МЛ); 37,9 % (L); 44,45 % (МВ) та 44,97 % (В).

Отже, БКЕ МЛ, В, МВ здатні значно підвищувати адгезивний потенціал *B. bifidum* та *L. reuteri*. За їх впливу обидві дослідні пробіотичні бактерії із категорії «середньоадгезивні» переходили в категорію «високоадгезивні» з ІАМ > 4,0. Лактобактерії високоадгезивними ставали також за впливу екстракту з дезінтеграції лактобактерій (БКЕ L).

Таблиця 1.
Адгезивна здатність *B. bifidum* (Bb) та *L. reuteri* (Lr) за впливу БКЕ

| Культура | Показник | Контроль | БКЕ | | | |
|----------|----------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| | | | L | ML | B | MB |
| Bb | КА | 66±1,4 | 72±5,7 | 70±2,8 | 70±2,8 | 67±7,0 |
| | СПА | 2,18±0,14 | 2,57±0,02 | 3,26±0,08* | 3,48±0,14* | 3,13±0,64* |
| | ІАМ | 3,3±0,18 | 3,57±0,26 | 4,66±0,06* | 4,97±0,4* | 4,67±0,46* |
| Lr | КА | 64±5,7 | 68±1,4 | 71±4,2 | 73±1,4 | 68±1,4 |
| | СПА | 2,16±0,06 | 3,17±0,27* | 3,14±0,17* | 3,58±0,17* | 3,37±0,38* |
| | ІАМ | 3,38±0,39 | 4,66±0,3* | 4,42±0,28* | 4,9±0,14* | 4,95±0,46* |

Примітки: * – відмінності значущі відносно контрольних показників.

В роботі Bernet M.-F. зі співавторами було повідомлено про білковий компонент на поверхні біфідобактерій та у складі культуральних супернатантів, який сприяв їх адгезії до клітин Сасо-2 [2]. Можливо, присутністю подібного стимуляторного фактора було зумовлене значне посилення адгезивної здатності пробіотичних клітин за впливу дослідних БКЕ. Bernet M.-F. зі співавторами наголошували на видоспецифічності стимуляторів адгезії біфідобактерій і лактобактерій. В наших експериментах спостерігалась лише часткова видоспецифічність: екстракт з дезінтеграції *L. reuteri* (БКЕ L) не виявив значного впливу на адгезивну здатність біфідобактерій. Водночас БКЕ МЛ значно її підвищував, а БКЕ з дезінтеграції і культури *B. bifidum* (В та МВ) значно підсилювали адгезивний потенціал *L. reuteri*. Результати цього дослідження добре узгоджуються з отриманими нами раніше даними і частково пояснюють посилення біоплівкоутворення *B. bifidum* за присутності БКЕ МЛ, В та МВ. Адгезія до поверхні субстрату є необхідним початковим етапом біоплівкоутворення, який передувє процесам синтезу позаклітинного полімерного матриксу. Отриманий в цьому дослідженні ефект посилення адгезивних властивостей *L. reuteri* за впливу всіх БКЕ вказує на те, що пригнічення біоплівкоутворення *L. reuteri*, про яке ми повідомили раніше, пов'язане з інгібіторним впливом екстрактів на наступні після адгезії етапи біоплівкоутворення [8].

За середньою кількістю мікроорганізмів, що брали участь в адгезивному процесі, стафілококи були віднесені до категорії «високоадгезивні». Розрахований для них ІАМ становив 4,48 (табл. 2). За впливу екстрактів з дезінтеграції спостері-

галася тенденція до підвищення або достовірне підвищення ІАМ стафілококів: на 17,2 % (БКЕ В) та на 23,5 % (БКЕ L). Підвищення СПА було незначним: на 11 % (БКЕ L) та 9,1 % (БКЕ В). При введенні БКЕ з культур пробіотичних бактерій до середовища інкубації стафілококів з еритроцитами спостерігалася тенденція до зниження показників адгезії. За впливу екстракту з культури лактобактерій (БКЕ МЛ) СПА зменшувався на 15 %, а ІАМ – на 7,4 %. За впливу екстракту з культури біфідобактерій (БКЕ МВ) СПА зменшувався на 13,2 %, ІАМ – на 13,4 %, а стафілококи переходили з категорії «високоадгезивні» в категорію «середньоадгезивні». Жоден з екстрактів не викликав суттєвих змін КА.

За середньою кількістю мікроорганізмів, що брали участь в адгезивному процесі, *E. coli* була віднесена до категорії «середньоадгезивні». Розрахований для неї ІАМ становив 2,84 (табл. 2). За впливу БКЕ L спостерігалася тенденція до підвищення адгезивності *E. coli*: СПА збільшувався на 16,4 %, а ІАМ – на 6,7 %. За впливу решти екстрактів показники адгезії *E. coli* були нижчими, ніж контрольні, але статистично значущої різниці між ними не було виявлено. Незважаючи на незначне зменшення ІАМ (на 16,6 %) та СПА (на 8,8 %), за впливу БКЕ МВ культура переходила з категорії «середньоадгезивних» до категорії «низькоадгезивних». Жоден з БКЕ не спричиняв статистично достовірних змін КА.

Таким чином, серед досліджених екстрактів лише БКЕ L спричиняв достовірне підвищення ІАМ тест-культури *S. aureus*. Решта БКЕ викликали незначні зміни адгезивного потенціалу тест-культур. За їх впливу спостерігалася тенденція до підвищення або зниження адгезивної

здатності тест-культур. БКЕ МВ спричиняв перехід тест-культури *S. aureus* з категорії «високоадгезивних» в категорію «середньоадгезивних»,

а тест-культури *E. coli* – з категорії «середньоадгезивних» в категорію «низькоадгезивних».

Таблиця 2.
Адгезивна здатність *S. aureus* (Sa) та *E. coli* (Ec) за впливу БКЕ

| Культура | Показник | Контроль | БКЕ | | | |
|----------|----------|------------|------------------|-----------|-----------|-----------|
| | | | L | ML | B | MB |
| Sa | КА | 71±2,8 | 64±2,8 | 65±1,4 | 66±2,8 | 71±4,2 |
| | СПА | 3,18 ± 0,2 | 3,54±0,03 | 2,7±0,3 | 3,47±0,24 | 2,76±0,23 |
| | ІАМ | 4,5±0,53 | 5,53±0,2* | 4,15±0,38 | 5,25±0,59 | 3,88±0,06 |
| Ec | КА | 56±2,8 | 61±4,2 | 59±1,4 | 55±1,4 | 61±1,4 |
| | СПА | 1,59±0,16 | 1,85±0,04 | 1,51±0,07 | 1,44±0,03 | 1,45±0,16 |
| | ІАМ | 2,84±0,42 | 3,0±0,14 | 2,55±0,06 | 2,61±0,02 | 2,37±0,2 |

Примітки: * – відмінності достовірні відносно контрольних показників.

Singh T. P. зі співавторами показали, що пробіотичні штами *L. reuteri* здатні різною мірою пригнічувати адгезію *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella typhi* NCDC113, *Listeria monocytogenes* ATCC53135 і *Enterococcus faecalis* NCDC115 [16]. Різні ступені пригнічення адгезії та інвазії ентеровірулентних штамів *E. coli*, *S. typhimurium* та *Y. pseudotuberculosis* за впливу адгезивних штамів біфідобактерій спостерігали також Bernet M.-F. зі співавторами [2]. Залежність антиадгезивної здатності (профілів конкуренції, витіснення та виключення патобіонтів) від штамової належності пробіотика і патобіонта свідчила про залучення різних механізмів в її реалізації.

Низкою дослідників було повідомлено про здатність деяких пробіотичних бактерій продукувати антиадгезивні речовини. Fujiwara зі співавторами описали «бацилярний інгібіторний фактор». Цей протеїновий компонент з культурального супернатанта *Bacillus longum* BL 2928 був здатний пригнічувати адгезію грам-негативних ентеробактерій, зокрема, ентеротоксигенного штаму *E. coli* Pb 176 до гліколіпідних рецепторів. Інгібіторна активність супернатанту підвищувалася зі збільшенням часу культивування *Bacillus longum* і досягала максимуму через 72 години. Інші дослідники виявили потужний інгібіторний пептид 3500 Да, здатний блокувати адгезію *S. typhimurium* SL 1344 та *E. coli* C 1845, у двох штамів *B. bifidum* (CA1 та F9), *L. casei rhamnosus* GG, *L. johnsonii* LA1, *L. acidophilus* LB. Протеїнові субстанції, що пригнічували адгезію і колонізацію *E. coli* O157:H7, продукували *B. lactis* DR10, *B. bifidum* RBL 71 та *B. bifidum* RBL 460. Адгезії до муцину *C. perfringens* перешкоджав супернатант *B. lactis* LKM 512 [12]. Супернатанти бульйонних культур *B. longum* BB536 та *L. rhamnosus* HN001 виявили здатність пригнічувати адгезію грам-негативних потенційних патогенів до HT-29 клітин [6]. В умовах нашого експерименту не вдалося виявити значної (> 20 %) прямої антиадгезивної активності БКЕ щодо патобіонтів. Але здатність значно підвищувати адгезивний потенціал пробіотичних бактерій можна розглядати як непряму антиадгезивну активність БКЕ щодо патобіонтів.

Висновки

та перспективи подальших досліджень

Встановлено здатність БКЕ з дезінтегратів і культур пробіотичних штамів *B. bifidum* 1 та *L. reuteri* DSM 17938 значно підвищувати адгезивний потенціал *L. reuteri* і *B. bifidum*, сприяючи їх переходу із категорії «середньоадгезивних» в категорію «високоадгезивних». Жоден з БКЕ не виявив значної прямої антиадгезивної активності щодо патобіонтів, а БКЕ L викликав достовірне підвищення ІАМ тест-культури *S. aureus*. За впливу БКЕ МВ спостерігалася тенденція до зниження адгезивного потенціалу патобіонтів, перехід тест-культури *S. aureus* з категорії «високоадгезивних» в категорію «середньоадгезивних», а тест-культури *E. coli* – з категорії «середньоадгезивних» в категорію «низькоадгезивних». Отримані дані будуть враховані при розробці нових метабіотиків на основі дериватів пробіотичних штамів *B. bifidum* 1 та *L. reuteri* DSM 17938.

Література

1. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-Negative Staphylococci. Clinical Microbiology Reviews. 2014 Oct; 27(4):870–926.
2. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. Applied and Environmental Microbiology. 1993; 59(12):4121–8.
3. Brilis VI, Brilene TA, Lentsner HP, Lentsner AA. Metodika izucheniya adgezivnogo protsessa mikroorganizmov [Method of studying the adhesive process of microorganisms]. Laboratornoe delo. 1986; 4:210–2. (Russian).
4. Chicherin IYu, Pogorelsky IP, Lundovskikh IA, Darmov IV, Shabalina MR. Intestinal dysbiosis, human health and functional nutrition. Theory and practice of meat processing. 2017; 2(4): 44–61.
5. Grover S, Rajput Y, Duany R, Batish V. Assessing the adhesion of putative indigenous probiotic lactobacilli to human colonic epithelial cells. The Indian Journal of Medical Research. 2011; 134(5):664.
6. Inturri R, Stivala A, Furneri PM, Blandino G. Growth and adhesion to HT-29 cells inhibition of Gram-negatives by *Bifidobacterium longum* BB536 e *Lactobacillus rhamnosus* HN001 alone and in combination. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2016; 20: 4943–9.
7. Knysh OV. Bifidogenic properties of cell-free extracts derived from probiotic strains of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri*. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2019 Feb 10; 10(1):124–8.
8. Knysh OV. The effects of cell-free extracts derived from probiotic strains *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri* on the proliferation and biofilm formation by *Lactobacillus reuteri* in vitro. Zaporozhye medical journal 2019; 21 (6), 828–834.
9. Knysh OV, Isayenko OY, Voyda YV, Kizimenko OO, Babych YM. Influence of cell-free extracts of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri* on proliferation and biofilm formation by

- Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2019 Apr 17; 10(2):251–6.
10. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. *Nature Reviews Microbiology*. 2010 Mar; 8(3):171–84.
11. Livinska OP, Harmasheva IL, Kovalenko NK. Vplyv teikhoievykh kyslot probiotychnykh laktobatsyl na mikrobnu adheziyu do epiteliialnykh klityn [The effect of teichoic acids of probiotic lactobacilli on microbial adhesion to epithelial cells]. *Mikrobiolohichnyi zhurnal*. 2012; 74 (3), 16–22. (Ukrainian).
12. Malago JJ, Koninkx JFJG. Probiotic-Pathogen Interactions and Enteric Cytoprotection. Probiotic Bacteria and Enteric Infections. In: Malago, J.J., Koninkx, J.F.J.G., Marinsek-Logar, R (eds.). Probiotic Bacteria and Enteric Infections: Cytoprotection by Probiotic Bacteria, Part VI, Chapter 13 (pp. 289–311). Springer Science & Business Media, 476 p.
13. Monteagudo-Mera A, Rastall RA, Gibson GR, Charalampopoulos D, Chatzifragkou A. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019 Jul 2; 103(16):6463–72.
14. Serafini F, Strati F, Ruas-Madiedo P, Turrioni F, Foroni E, Duranti S, et al. Evaluation of adhesion properties and antibacterial activities of the infant gut commensal *Bifidobacterium bifidum* PRL2010. *Anaerobe*. 2013 Jun; 21:9–17.
15. Shenderov BA, Tkachenko EI, Zakharchenko MM, Sinitsa AV. Metabiotiki: perspektivy, vyzyvnyi i vozmozhnosti [Metabiotics: prospects, challenges and opportunities]. *Meditinskiy alfavit*. 2019; 2(13):43–48. (Russian).
16. Singh TP, Kaur G, Kapila S, Malik RK. Antagonistic activity of *Lactobacillus reuteri* strains on the adhesion characteristics of selected pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 2017 Mar 21; 8.
17. Westermann C, Gleinser M, Corr SC, Riedel CU. A critical evaluation of bifidobacterial adhesion to the host tissue. *Frontiers in Microbiology*. 2016 Aug 5; 7.

Реферат

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ БЕСКЛЕТОЧНЫХ ЭКСТРАКТОВ BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM 1 И LACTOBACILLUS REUTERI DSM 17938

Кныш О.В., Колпак С.А., Погорелая М.С., Бабич Е.М.

Ключевые слова: адгезия; бесклеточные экстракты; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Bifidobacterium bifidum*; *Lactobacillus reuteri*.

Повышение адгезивного потенциала пробиотических бактерий с одной стороны и ослабление адгезивной способности патобионтов с другой – патогенетический обоснованный подход к борьбе с инфекционными заболеваниями и дисбиозом кишечника. В последнее время постбиотические продукты считают одними из наиболее перспективных средств воздействия на микробиоту кишечника. Целью работы было исследовать влияние бесклеточных экстрактов, содержащих дериваты *Bifidobacterium bifidum* 1 и *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, на адгезивные свойства пробиотических (*L. reuteri* DSM 17938 и *B. bifidum* 1) и условно-патогенных бактерий (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* ATCC 25922). Исследовано четыре бесклеточных экстракта: L – из дезинтеграта *L. reuteri*; ML – из культуры *L. reuteri*, которая культивировалась в собственном дезинтеграте; B – из дезинтеграта *B. bifidum*; MB – из культуры *B. bifidum*, которая культивировалась в собственном дезинтеграте. Исследование влияния экстрактов на адгезивные свойства микроорганизмов проводили по методу Бриллиса. Установлено, что экстракты ML, MB и B способны значительно повышать адгезивный потенциал *B. bifidum* и *L. reuteri*. Под их влиянием индекс адгезии микроорганизмов, рассчитанный для бифидобактерий, увеличился на 41,1 % (ML), 41,5 % (MB) и 50,6 % (B), а рассчитанный для лактобактерий, увеличился на 30,77% (ML), 44,45 % (MB) и 44,97 % (B). Обе исследуемые пробиотические бактерии из категории «среднеадгезивных» переходили в категорию «высокоадгезивных» с индексом адгезии микроорганизмов > 4,0. Лактобактерии «высокоадгезивными» становились также под влиянием экстракта L, при этом индекс адгезии микроорганизмов повышался на 37,9 %. Среди исследованных только экстракт L вызывал достоверное повышение индекса адгезии тест-культуры *S. aureus*. Остальные экстракты вызывали незначительные изменения адгезивного потенциала тест-культур. Под их влиянием наблюдалась тенденция к повышению или снижению адгезивной способности бактерий. Под влиянием экстракта MB тест-культура *S. aureus* переходила из категории «высокоадгезивных» в категорию «среднеадгезивных», а тест-культура *E. coli* – из категории «среднеадгезивных» в категорию «низкоадгезивных». Полученные данные будут учтены при разработке новых метабитотиков на основе дериватов пробиотических штаммов *B. bifidum* 1 и *L. reuteri* DSM 17938.

Summary

ADHESIVE PROPERTIES OF BACTERIA UNDER THE INFLUENCE OF BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM 1 AND LACTOBACILLUS REUTERI DSM 17938 CELL-FREE EXTRACTS

Knysh O.V., Kolpak S.A., Pogorila M.S., Babych Ye.M.

Key words: adhesion; cell-free extracts; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Bifidobacterium bifidum*; *Lactobacillus reuteri*.

Increasing in the adhesive potential of probiotic bacteria on the one hand and weakening the adhesive ability of the pathobionts on the other is a pathogenetically based approach in the fight against intestinal infectious diseases and intestinal dysbiosis. At present postbiotic products are considered as one of the most promising means of influencing the intestinal microbiota. The aim of the work was to study the effect of cell-free extracts containing derivatives of *Bifidobacterium bifidum* 1 and *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 on the adhesive properties of probiotic (*L. reuteri* DSM 17938 and *B. bifidum* 1) and opportunistic bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922). Four cell-free extracts were investigated: L – obtained from the *L. reuteri* disintegrate; ML – obtained from the *L. reuteri* culture, cultivated in its own disintegrate; B – obtained from the *B. bifidum* disintegrate; MB – obtained from the *B. bifidum* culture, cultivated in its own disintegrate. The effect of cell-free extracts on the adhesive properties of microorganisms was studied by using Brilis method. ML, MB, and B extracts were found to be able to significantly increase the adhesive potential of *B. bifidum* and *L. reuteri*. Under their influence adhesion index calculated for bifidobacteria increased by 41.1 % (ML), 41.5 % (MB) and 50.6 % (B), and the microorganism adhesion index calculated for lactobacilli increased by 30.77 % (ML), 44.45 % (MB) and 44.97 % (B). Both

studied probiotic bacteria moved up from the category of «moderately adhesive» into the category of «strongly adhesive» with microorganism adhesion index > 4.0 . Lactobacilli also became «strongly adhesive» under the influence of L extract, while microorganism adhesion index increased by 37.9 %. Among the studied extracts, only L extract caused a significant increase in the adhesion index of the *S. aureus* test culture. The other extracts caused minor changes in the adhesive potential of the test cultures. Under their influence, there was a tendency to increase or decrease the adhesive ability of bacteria. Under the influence of MB extract, the *S. aureus* test culture passed from the «strongly adhesive» category to the «moderately adhesive» category, and the *E. coli* test culture transferred from the «moderately adhesive» category to the «weakly adhesive» category. The data obtained are of great importance when developing new metabiotics based on the *B. bifidum* 1 and *L. reuteri* DSM 17938 probiotic strains derivatives.

DOI 10.31718/2077-1096.20.2.134

УДК: 611.346

Кобеняк М.М.

ПОРІВНЯЛЬНО-ВИДОВА КОНЦЕПЦІЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ СЛІПОЇ КИШКИ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

В останні десятиріччя широкого розповсюдження набули захворювання травної системи, які потребують негайного, як терапевтичного, так і хірургічного лікування, і тому постає закономірне завдання пошуку нових та оптимізація існуючих технологій і способів корекції вищезгаданих нозологій. Доклінічні дослідження таких розробок проводяться виключно на лабораторних тваринах і знання морфологічних особливостей їх будови для подальшого порівняння з морфологією аналогічних органів людини є актуальним завданням сучасної медико-біологічної науки. Враховуючи, що праця виконувалась в рамках науково-дослідної роботи пов'язаної з обґрунтуванням вибору тих чи інших хірургічних ниток, які використовуються при зшиванні ранового дефекту товстого кишечника, то стає зрозумілим актуальність наукової публікації. В роботі використані адекватні методи досліджень відповідно до поставленої мети, а саме: гістологічний, мікроскопічний, морфометричний і статистичний, та були вивчені біоптати сліпої кишки 5 кролів. Оцінили правильність розподілу ознак за кожним із отриманих варіаційних рядів, середні значення за кожною вивченою ознакою, стандартні помилки та стандартні відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними мікрометричними величинами при нормальному розподілі ознак визначали за критерієм Ст'юдента. В роботі охарактеризовані основні структурні компоненти сліпої кишки кролів і порівняні з аналогічними структурами сліпої кишки людини. Визначено, що сліпа кишка кролів, як і у людини, складається з чотирьох оболонок: слизової, підслизової, м'язової і серозної. Слизова оболонка побудована з епітеліального пласту, який розташовується на базальній мембрані і м'язовій пластинці, має кровоносні і лімфатичні судини та нервові закінчення. Підслизова оболонка складається з пухкої волокнистої сполучної тканини, яка у своєму складі містить колагенові і ретикулярні волокна, елементи дифузної лімфоїдної тканини, кровоносні судини і нервові закінчення. М'язова і серозна оболонки побудовані аналогічно сліпій кишці людини. Таким чином після проведеного дослідження визначено, що морфологічна організація сліпої кишки кролів на світлооптичному рівні має загальні закономірності будови аналогічні таким у сліпій кишці людини.

Ключові слова: сліпа кишка, оболонки сліпої кишки, крипти, артеріоли, капіляри, венули.

Наукова робота проведена у рамках НДР «Експериментально – морфологічне обґрунтування дії нових хірургічних шовних матеріалів, імплантів та покривних поверхонь на різні органи при використанні в експерименті та клінічній практиці», № держреєстрації 0118U004459.

Вступ

Захворювання органів травної системи завжди займало одне з передових місць. Нажаль тенденція, що до цих захворювань йде на зріст. [1]. В останні роки спостерігається стрімкий розвиток захворюваності товстого кишечника, серед яких злякисні новоутворення, поліпоз, дивертикульози та ін. [2]. В зв'язку з цим значно зросла кількість оперативних втручань на товстому кишечнику, а з цим і зросли вимоги, як до техніки виконання операцій, так і до використання шовних матеріалів.

Чітке розуміння структури кишечника, зокрема товстого, надасть змогу хірургу проведення

успішних оперативних втручань, а головне правильний підхід, що до ведення хворого в післяопераційному періоді. Розуміння структурних компонентів стінки товстого кишечника в нормі, надасть змогу для визначення ступеню ураження при різних патологічних станах.

Виходячи з вищенаведеного вивчення морфології сліпої кишки кролів у нормі є актуальним медико-біологічним завданням, а отримані дані будуть слугувати у якості контрольних показників при проведенні серії експериментальних розробок.

Метою роботи було вивчення структурної організації сліпої кишки кролів у порівняльно-видовому аспекті та для отримання контрольних даних щодо її морфологічних особливостей.