

УДК 577.21: 576.31

А.М. Манвелян, А.З. Пепоян, С.С. Мирзабекян, Г. Горие

Пробиотический потенциал штаммов E. coli G35 N59 и 61

(Представлено академиком К.Г. Карагезяном 27/VII 2005)

Ключевые слова: пробиотик, кишечная микрофлора, антагонистический потенциал, антибиотикорезистентность, *E. coli*

Современный образ жизни, а также определенные медикаменты, такие как антибиотики, влияют на состав кишечной флоры, в результате чего филогенетически устойчивое состояние микроорганизмов человека нарушается, что приводит к различным заболеваниям. Восстановление кишечной экосистемы возможно с помощью пробиотиков (штаммов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus* и *E. coli*) [1-7]. Детальная информация о действии пробиотических бактериальных штаммов на разные заболевания необходима для более эффективного применения синбиотиков.

Целью настоящей работы было выявление пробиотического потенциала штаммов *E. coli* G35 N59 и 61.

Мы использовали коммерческий синбиотик окарин (в ампулах, IMBIO, Украина) и его штаммы *E. coli* G35 N59 и 61. Бактерии выращивались аэробно в среде LB (10 г триптона, 5 г дрожжевого экстракта, 10 г NaCl на 1 л, pH 7.5), с добавлением 1.8 % агара при необходимости.

Было исследовано влияние окарина и пробиотических штаммов *E. coli* G35 на качественные и количественные изменения бактерий кишечной микрофлоры 52 пациентов-добровольцев (средний возраст 32.3 года) с периодической болезнью (ПБ), хроническим колитом и кишечным раком. У всех пациентов наблюдался высокий уровень условно-патогенных бактерий (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*), дисбиоз в лактозе позитивных комменсальных *E. coli* и *Candida* в кишечной микрофлоре.

Таблица 1

Влияние пробиотикотерапии на кишечную микрофлору людей, %

Группа	<i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Citrobacter</i> при норме	Лактозо- положительные комменсальные <i>E. coli</i> при норме	<i>Candida</i> при норме
Пациенты, принимающие плацебо (n = 12)	52.6±1.2	47.4±1.5	75.2±2.1
Пациенты, принимающие окарин (n = 15)	87.1±1.3	95.4±3.3	80.3±1.6
Пациенты, принимающие G35 N59 (n = 12)	83.3±3.2	90.0±4.1	77.3±2.5
Пациенты, принимающие G35 N61 (n = 13)	60.2±2.1	95.3±1.4	78.4±2.1

Примечание. Статистический анализ осуществлен по критерию Стьюдента ($p < 0.05$).

Таблица 2

**Пропорции чувствительных и мультирезистентных комменсальных *E. coli* в
кишечной микрофлоре лиц, принимающих пробиотики, %**

Штаммы	Здоровая группа (n = 25)	Пациенты, принимающие плацебо (n = 12)	Пациенты, принимающие окарин (n = 15)	Пациенты, принимающие G35 N59 (n = 12)	Пациенты, принимающие G35 N61 (n = 13)
Чувствительные	95.4±2.3	44.2±2.1	43.5±0.9	45.2±2.3	85.5±2.4
Мультирезистентные*	2.5±0.3	43.4±1.9	43.7±2.3	42.2±1.4	5.8±1.1

Примечание. *Резистентные по крайней мере к двум группам антибиотиков.
Статистический анализ осуществлен по критерию Стьюдента ($p < 0.05$).

Таблица 3

Антагонистический потенциал штаммов *E. coli* G35 против патогенов

Штаммы	G35 N59	G35 N61
Enterobacter aerogenes ATCC N35028	+	–
Salmonella enterica ATCC N700931	+	+
Streptococcus pyogenes ATCC N19615	–	–

Примечание. + торможение роста. Статистический анализ осуществлен по критерию Стьюдента ($p < 0.05$).

Испытуемые были разбиты на следующие группы: пациентов, принимающих плацебо (n = 12); пациентов, принимающих окарин (n = 15); пациентов, принимающих G35 N59 (n = 12), и пациентов, принимающих G35 N61 (n = 13). Также была исследована кишечная микрофлора 20 здоровых контрольных лиц. Состав кишечной микрофлоры пациентов был изучен спустя 4-6 месяцев после прекращения приема бактерий или плацебо.

Исследовано 7 комменсальных *E. coli* изолятов для каждого пациента из образцов свежего стула на чувствительность к антибиотикам, мг/мл: тетрациклин (15), доксициклин (15), амоксициллин (25), ампициллин (35), цефоперазон (75), цефокситин (50), канамицин (50), гентамицин (50), левомицетин (30) и стрептомицин (50).

Идентификация *Candida* проводилась на основе роста на CHROMagarTM (Париж, Франция), идентификация *Streptococcus pyogenes* была основана на Columbia sheep blood agar (Oxoid, Великобритания). Были использованы также *Candida albicans* ATCC N10231, *Citrobacter freundii* ATCC N8090, *E. coli* ATCC N25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC N4352, *Proteus vulgaris* ATCC N13315, *Enterobacter aerogenes* ATCC N35028, *Salmonella enterica* ATCC N700931 и *Streptococcus pyogenes* ATCC N19615.

Как показали результаты исследований, окарин и его штаммы оказались значительно эффективнее плацебо (табл. 1). Сравнение кишечной микрофлоры пациентов, принимающих окарин и окариновые штаммы, с кишечной микрофлорой здоровых лиц выявило, что процент антибиотикорезистентности *E. coli*, изолированных от пациентов, принимающих синбиотик, был значительно выше, чем у контрольной группы (табл. 2). Установлено также, что штаммы *E. coli* G35 N59 и 61 из окарина обладают антагонистическим потенциалом против человеческих патогенов - *Enterobacter aerogenes* и *Salmonella enterica* (табл. 3).

Ա.Մ. Մանվելյան, Ա.Զ. Փեփոյան, Ս.Ս. Միրզաբեկյան, Հ. Հորիե

E.coli G35 N59 և 61 շտամների պրոբիոտիկ պոտենցիալը

Աղիքային դիսբալանսի վերականգնման համար կարևոր նշանակություն ունեն պրոբիոտիկները: Սակայն պրոբիոտիկների առավել արդյունավետ օգտագործումը պահանջում է նրա բակտերիալ շտամների մանրակրկիտ նկարագրություն: Ցույց է տրվել E.coli G35 N59 և 61 շտամների (որոնք օկարին սիմբիոտիկի բաղադրամասեր են) անտագոնիստական պոտենցիալը պաթոգենների նկատմամբ in vitro և in vivo փորձերում (Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Citrobacter), ինչպես նաև նրանց ազդեցությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ կայուն աղիքային կոմենսալ E. coli-ների քանակական կազմի վրա:

A. M. Manvelyan, S. S. Mirzabekyan, A. Z. Pepoyan, H. Horie

Probiotic Potential of E. coli G35 N59 and 61 Strains

Probiotics have great value for restoration of balance of intestines. But the optimal use of probiotics demands the detailed description of bacterial strains. It has been shown the antagonistic potential of E.coli G35 N59 and 61 strains (which are symbiotic components of "Okarin") concerning pathogens in experiences in vitro and in vivo (Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Citrobacter), and also their influence on quantitative structure of antibiotic resistance intestinal commensal E. coli.

Литература

1. *Vanderhoof J. A.* - Am. J. Clin. Nutr. 2001. V. 3. N 6. P. 1152S-1155S.
2. *Fox CH, Dang G.* - J. Altern. Complement. Med (United States). 2004. V. 10. N 4. P. 601-3.
3. *Rosenfeldt V., Michaelsen K. F., Jakobsen M. et al.* - Pediatr. Infect. Dis. J . (United States). 2002. V. 21. N 5. P. 411-6.
4. *Seksik P., Marteau P.* - Therapie (England). 2004. V. 59. N1. P. 83-7.
5. *Mitsuyama K.* - Nippon Rinsho (Japan). 2005. V. 63. N5. P. 850-8.
6. *Karthik S. V.* - J. R. Soc. Med. (England). 2003. V. 96. N 7. P. 370.
7. *Marteau P., Seksik P., Shanahan F.* - Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol (England). 2003. V. 17. N 1. P. 47-61.