

УДК 637.344

А.Н. Иркитова, Я.Р. Каган, Г.Г. Соколова

### Влияние характера субстрата на антагонистическую активность *Lactobacillus Acidophilus* по отношению к *Escherichia Coli*

A.N. Irkitova, Ya. R. Kagan, G.G. Sokolova

### Influence of Substratum Character on Antagonistic Activity of *Lactobacillus Acidophilus* in Relation to *Escherichia Coli*

Штаммы *Lactobacillus acidophilus*, обладающие антагонистической активностью, различаются по силе и характеру воздействия на ингибируемый микроорганизм, а также по ширине и специфичности спектра ингибируемых микроорганизмов. В статье представлены сравнительные данные антагонистической активности коллекционных штаммов *L. acidophilus* по отношению к тест-штаммам *Echerichia coli*.

**Ключевые слова:** антагонизм, *Lactobacillus acidophilus*, *Echerichia coli*, метод перпендикулярных штрихов, метод капель.

Ацидофильная палочка широко известна как активный антагонист патогенной, условно-патогенной и технически-вредной микрофлоры и ее часто используют в лечебно-профилактическом питании, включают в состав заквасок, молочных продуктов и пищевых добавок для сельскохозяйственных животных.

Исследование антагонистической активности штаммов *L. acidophilus* по отношению к штаммам тест-культуры *E. coli* при культивировании на твердом субстрате (АГМ для палочек) с использованием классического метода перпендикулярных штрихов показало, что все коллекционные штаммы *L. acidophilus* проявили заметный антагонистический эффект по отношению к тест-культуре *E. coli* штамму СКМ-829 (рис. 1), но отличались по силе действия на штаммы кишечной палочки *E. coli*. Наибольшие зоны ингибирования *E. coli* (до 8,5–13,5 мм) дали штаммы СКМ-500, СКМ-492 и СКМ-504, а наименьшие (не более 2,5 мм) – штаммы СКМ-503 и СКМ-499 (табл. 1).

Результаты исследования показали, что антагонистический эффект *L. acidophilus* к тест-штамму СКМ-830 значительно слабее и его проявили штаммы СКМ-502 (1,25 мм), СКМ-492 (1,25 мм) и СКМ-497 (0,5 мм). Остальные штаммы *L. acidophilus* не проявили антагонизма по отношению к штамму СКМ-830, но угнетающе действовали на штамм СКМ-829. Если рассматривать штаммы по силе антагонистического действия по отношению к обоим штаммам *E. coli*, то самым сильным антагонистом оказался штамм СКМ-492 (табл. 1).

The *Lactobacillus acidophilus* strains possessing antagonistic activity vary in strength and nature of the impact on a repressible microorganism, and also in width and specificity of a range of the repressible microorganisms. The article presents comparative data on antagonistic activity of *Lactobacillus acidophilus* collection strains in relation to *Echerichia coli* test strains.

**Key words:** antagonism, *Lactobacillus acidophilus*, *Echerichia coli*, method of perpendicular strokes, method of drops.

Таким образом, большинство исследуемых штаммов *L. acidophilus* (9 из 11 штаммов) в условиях произрастания на твердом субстрате не проявили антагонистического эффекта к штамму СКМ-830, несмотря на то, что все исследуемые штаммы ацидофильной палочки – промышленные, и они уже отобраны по наличию антибиотической активности. Такие противоречивые результаты можно объяснить тем, что при применении метода перпендикулярных штрихов не учитывается количественное соотношение штамма-антагониста и штамма тест-культуры, а следовательно, исключается эффект взаимодействия между антагонистом и его жертвой.

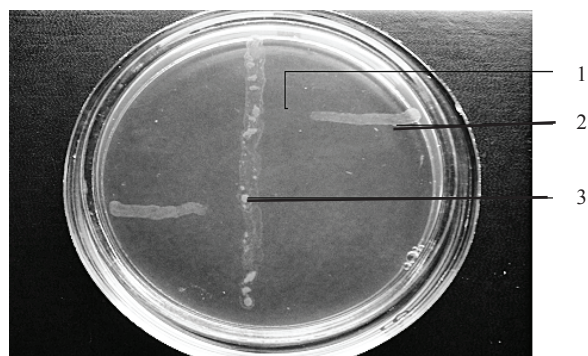


Рис. 1. Оценка антагонистической активности *L. acidophilus* (штамм СКМ-500) к *E. coli* (штамм СКМ-829) по методу перпендикулярных штрихов: 1 – зона ингибирования *E. coli*; 2 – рост штамма *E. coli*; 3 – рост штамма-антагониста *L. acidophilus*

Таблица 1  
Антагонистическая активность коллекционных штаммов *L. acidophilus* по отношению к штаммам тест-культуры *E. coli*

№	Штамм <i>L. acidophilus</i>	Зона подавления <i>E. coli</i> , мм	
		СКМ-829	СКМ-830
1	СКМ-492	9,50±0,98	1,25±1,47*
2	СКМ-495	2,75±2,02	0,00±1,00*
3	СКМ-497	5,25±1,23	0,50±0,98*
4	СКМ-498	5,50±1,70	0,00±1,00*
5	СКМ-499	2,00±2,12	0,00±1,00*
6	СКМ-500	13,75±1,86	0,00±1,00*
7	СКМ-501	6,25±0,94	0,00±1,00*
8	СКМ-502	6,25±0,49	1,25±1,86*
9	СКМ-503	2,50±0,57	0,00±1,00*
10	СКМ-504	8,75±1,47	0,00±1,00*
11	СКМ-505	4,50±1,27	0,00±1,00*

\* Антагонистическая активность коллекционных штаммов *L. acidophilus* по отношению к тест-штамму СКМ-830 достоверно отличается от подавления тест-штамма СКМ-829 при  $p < 0,05$  по t-критерию Стьюдента

Поэтому проведено повторное исследование антагонистической активности штаммов *L. acidophilus* по отношению к штаммам тест-культуры *E. coli* с использованием модифицированного нами метода капель, лишенного этих недостатков. При применении модифицированного метода капель строго учитывается количество штамма-антагониста и штамма тест-культуры. Кроме того, культуры высеваются одновременно и вступают в контакт друг с другом одновременно, т.е. появляется эффект взаимодействия, взаимного влияния антагониста и штамма тест-культуры друг на друга.

Результаты повторного исследования выявили, что антагонистический эффект *L. acidophilus* к *E. coli* проявился сильнее в данном случае, чем при использовании метода перпендикулярных штрихов (рис. 2). Это подтверждает наше предположение о том, что штаммы-антагонисты и штаммы тест-культуры, развиваясь одновременно, сильнее влияют друг на друга. Штаммы *L. acidophilus*, выделяя в среду антибиотические вещества, ингибировали развитие штаммов *E. coli*. По отношению к штамму СКМ-829 наиболее активным антагонистом оказался штамм СКМ-500 – МСК =  $10^0$ , на втором месте – штаммы СКМ-501 и СКМ-502 (МСК =  $10^2$ ), а самый слабый – штамм СКМ-498 (МСК =  $10^6$ ). По отношению к штамму СКМ-830 (А-1) самыми активными антагонистами оказались штамм СКМ-500 (МСК =  $10^1$ ), а также штаммы СКМ-501 и СКМ-502, а самыми слабыми – штаммы СКМ-498, СКМ-499, СКМ-504 (МСК =  $10^6$ ) (табл. 2).

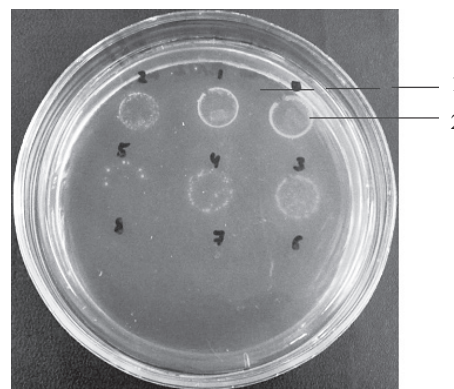


Рис. 2. Оценка антагонистической активности *L. acidophilus* (штамм СКМ-500) к *E. coli* (штамм СКМ-829) модифицированным методом капель: 1 – газон *L. acidophilus*; 2 – колония *E. coli*

Таблица 2  
Ингибирование роста штаммов тест-культуры *E. coli* коллекционными штаммами *L. acidophilus* при совместном культивировании в среде «АГМ для палочек»

№	Штамм <i>L. acidophilus</i>	Минимальное соотношение клеток антагонист/тест-культура, вызывающее полное подавление роста штаммов тест-культуры	
		СКМ-829	СКМ-830
1	СКМ-492	103	105
2	СКМ-495	104	105
3	СКМ-497	105	105
4	СКМ-498	106	106
5	СКМ-499	105	106
6	СКМ-500	100	101
7	СКМ-501	102	104
8	СКМ-502	102	104
9	СКМ-503	104	105
10	СКМ-504	102	106
11	СКМ-505	105	105

Следует отметить, что в контроле оба штамма кишечной палочки росли до 8-го разведения, что подтверждает ингибирование кишечной палочки испытуемыми штаммами *L. acidophilus*, причем степень этого ингибирования варьирует.

Для определения антагонистического эффекта штаммов *L. acidophilus* в отношении штаммов тест-культуры *E. coli* при культивировании на жидкой среде была использована жидкая среда Кесслера. Хотя в соответствии с данным методом антагонист и тест-культура и засеваются в среду Кесслера одновременно, этот метод вряд ли можно отнести к методам совместного культивирования, так как используемая питательная среда

неблагоприятна для роста ацидофильной палочки. На рост штаммов тест-культуры *E. coli* оказывают влияние продукты метаболизма *L. acidophilus*, внесенные вместе с посевным материалом, причем, в отличие от метода перпендикулярных штрихов, в этом случае полученный эффект менее зависим от размера и молекулярной массы ингибирующих соединений.

Анализ антагонистической активности коллекционных штаммов *L. acidophilus* к штаммам СКМ-829 и СКМ-830 при их культивировании в жидкой среде Кесслера выявил аналогичный порядок расположения штаммов по минимальному соотношению клеток антагонист/тест-культура, как при тестировании штаммов *L. acidophilus* на антагонистическую активность на твердой питательной среде методом капель (табл. 3).

Самым сильным антагонистом опять оказался штамм СКМ-500 (МСК =  $10^0$  по отношению к штамму тест-культуры СКМ-829 и МСК =  $10^1$  по отношению к штамму тест-культуры СКМ-830). Подтвердили свою активность и оказались на втором месте штаммы СКМ-501, СКМ-502 и СКМ-504 в отношении обоих штаммов *E. coli* (МСК =  $10^2$  по отношению к штамму СКМ-829, МСК =  $10^4$  по отношению к штамму СКМ-830). Наименее активными антагонистами оказались штаммы СКМ-497, СКМ-498, СКМ-499, СКМ-505 (МСК =  $10^5$ – $10^6$ ) в отношении обоих штаммов *E. coli*.

Следует отметить, что при 10-кратном повышении дозы посевного материала штаммов-антагонистов (с 0,1 до 1,0 см<sup>3</sup> /5 см<sup>3</sup> среды Кесслера) наблюдали резкое усиление антагонистического эффекта, выразившееся в снижении в среднем на 4–5 порядков минимального соотношения клеток антагонист/тест-культура, вызывающего полное подавление роста штаммов тест-культуры. Это, очевидно, объясняется дополнительным действием молочной кислоты, внесенной вместе с посевным материалом исследуемых штаммов *L. acidophilus*.

Таблица 3  
Ингибирование роста штаммов тест-культуры *E. coli* коллекционными штаммами *L. acidophilus* при культивировании в жидкой среде Кесслера

№	Штамм <i>L. acidophilus</i>	Минимальное соотношение клеток (МСК) антагонист/тест-культура, вызывающее полное подавление роста штаммов тест-культуры	
		СКМ-829	СКМ-830
1	СКМ-492	103	104
2	СКМ-495	104	105
3	СКМ-497	105	105
4	СКМ-498	106	106
5	СКМ-499	105	105
6	СКМ-500	100	101
7	СКМ-501	102	104
8	СКМ-502	102	104
9	СКМ-503	104	105
10	СКМ-504	102	104
11	СКМ-505	105	105

Таким образом, анализ антагонистической активности исследуемых штаммов *L. acidophilus* по отношению к штаммам тест-культуры *E. coli* при культивировании на твердой и жидкой средах показал, что самым сильным антагонистом оказался штамм СКМ-500, самым слабым – штамм СКМ-498, а характер субстрата не оказал влияния на антагонистическую активность исследованных штаммов *L. acidophilus*.