



9. Sosnovtseva O. V., Pavlov A. N., Pavlova O. N., Mosekilde E., Holstein-Rathlou N.-H. Characterizing the effect of L-name on intra- and inter-nephron synchronization // European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2009. Vol. 36. P. 39–50.
10. Addison P. S. The illustrated wavelet transform handbook: applications in science, engineering, medicine and finance. Bristol ; Philadelphia : IOP Publishing, 2002.
11. Дремин И. М., Иванов О. В., Нечитайло В. А. Вейвлеты и их применение // Успехи физических наук. 2001. Т. 171. С. 465–501.
12. Thurner S., Feurstein M. C., Teich M.C. Multiresolution wavelet analysis of heartbeat intervals discriminates healthy patients from those with cardiac pathology // Phys. Rev. Lett. 1998. Vol. 80. P. 1544–1547.
13. Wavelets in medicine and biology / Eds. A. Aldroubi, M. Unser. Boca Raton: CRC Press, 1996.
14. Daubechies I. Ten lectures on wavelets / Philadelphia : S.I.A.M., 1992.
15. Meyer Y. Wavelets: Algorithms and applications. Philadelphia : S.I.A.M., 1993.

УДК:576.852.24: 612.112.3: 611.018

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ НА МИКРОФЛОРУ ТОЛСТОГО ОТДЕЛА КИШЕЧНИКА САМОК КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ СТРЕССА



М. И. Правдивцева, Л. В. Карпунина, М. Д. Сметанина¹

Саратовский государственный аграрный университет

E-mail: Prav-85@rambler.ru

¹Саратовский государственный университет

E-mail: pha@rambler.ru

Изучено влияние экзополисахаридов молочнокислых бактерий – лаксаранов 1596, 1936 и Z – на микрофлору толстого отдела кишечника самок крыс при различных видах стресса. Было показано, что лаксараны способны стимулировать рост ряда молочнокислых бактерий и подавлять рост некоторой условно-патогенной микрофлоры в толстом кишечнике при негативных воздействиях, вызванных иммобилизационным, холодовым и этаноловым стрессами, выполняя роль пребиотиков.

Ключевые слова: экзополисахариды, стресс, микрофлора, животные (крысы).

Effect of Exopolysaccharides of Lactobacill on the Microflora of Large Intestine in Female Rats at Various Kinds of Stress

M. I. Pravdivtseva, L. V. Karpunina, M. D. Smetanina

The effect of exopolysaccharides of lactic acid bacteria – laksarans 1596, 1936 and Z on the microflora of large intestine in female rats at various kinds of stress. It was shown that laksarans able to stimulate the growth of some lactic acid bacteria and inhibit the growth of some opportunistic microflora in the large intestine with the negative impacts caused by immobilization, cold and ethanol stress, acting as prebiotics.

Key words: exopolysaccharides, stress, microorganisms, animals (rats).

Нормальная микрофлора, присутствующая в естественных условиях на коже и слизистых оболочках человека и животных, является одним из важнейших регуляторных механизмов, обеспечивающих гомеостаз организма-хозяина. Имеются сведения о взаимосвязи между микробной флорой и состоянием иммунной, кроветворной и других защитных систем макроорганизма. Известно, что при

повышенной физической нагрузке [1], различных стрессах [2], воздействии нервно-эмоционального напряжения [3] состав и количество микроорганизмов, населяющих организм в норме, могут изменяться, возникает состояние дисбактериоза, которое характеризуется уменьшением количества или элиминацией облигатной и транзитной микрофлоры, увеличением количества резидентной условно-патогенной кокковой флоры. Сдвиги в составе кишечной микрофлоры характеризуются прежде всего уменьшением количества бифидобактерий и последующим увеличением числа условно-патогенных и патогенных микроорганизмов [4].

Имеются работы по влиянию таких биологически активных соединений, как лектины бацилл, на микрофлору кишечника крыс [5, 6] при различных видах стресса. Однако публикаций относительно влияния экзополисахаридов (ЭПС) бактерий в доступной литературе мы не встретили.

Целью данной работы явилось изучение влияния экзополисахаридов молочнокислых бактерий – лаксаранов 1596, 1936 и Z – на микрофлору организма животных при различных видах стресса.

В работе использовали экзополисахариды (ЭПС) лаксаран 1596, 1936 и Z, которые были выделены нами ранее из молочнокислых лактобацилл по методу [7]. Лаксараны 1596, 1936, Z представляют собой нейтральные полисахариды с молекулярной массой 1700, 220, 140 кДа соответственно. Использовали самок белых беспородных крыс со средней массой 210 г. Экспериментальные



исследования выполняли в соответствии с требованиями Федерального закона от 01.01.1997 г. «О защите животных от жестокого обращения» и положениями Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.1986 г.). Всех животных содержали в стандартных условиях вивария.

При исследовании влияния ЭПС на микрофлору толстого кишечника самок крыс были взяты следующие классические виды стрессов (время экспозиции – 10 мин): иммобилизационный стресс (животных фиксировали на спине с использованием мягкой лигатуры); холодовой стресс (моделировали путем помещения крыс на лед); этаноловый стресс (вводили через зонд в желудок крыс 1 мл 25 %-ного этилового спирта) [8]. Лаксараны вводили по 200 мкл в концентрации 0,06 г/мл в организм животных ректально за день до стрессирования. После стрессирования у животных забирали содержимое толстого кишечника и проводили посев содержимого на селективные среды: гидролизованное молоко для выявления молочнокислых бактерий, среду Эндо – для кишечной палочки, желточно-солевой агар – для стафилококков методом серийных разведений [9]. Бактерии культивировали в термостате при 37 °С. Далее производили подсчет колоний и определяли морфологические признаки выросших бактерий. Видовой состав стафилококков определяли путем посева их на кровяной агар [10]. Идентификацию бактерий проводили по определителю Берджи [11].

По характеру воздействия животные были поделены на 5 групп:

1 группа – интактные животные, которым ничего не вводили;

2 группа – контрольные животные, которым ректально вводили 200 мкл стерильной дистиллированной воды;

3 группа – животные, которым ректально вводили 200 мкл лаксарана 1596 или 1936, или Z (0,06 г/мл);

4 группа – животные, которым ректально вводили 200 мкл стерильной дистиллированной воды за сутки до стресса – иммобилизационного, холодового или этанолового;

5 группа – животные, которые получали лаксаран 1596 или 1936, или Z за сутки перед иммобилизационным, холодовым и этаноловым стрессом.

Статистический анализ результатов проводили по стандартным методикам [12]. Использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента, достоверными считали различия $p < 0,05$.

В ходе проведенных экспериментов было установлено, что в интактной группе животных количество молочнокислых бактерий (стрептококков и лактобацилл), кишечной палочки, стафилококков практически не отличалось от количества бактерий контрольной группы животных, поэтому дальнейшие сравнения производили с показателями животных контрольной группы (табл. 1).

В группах животных после иммобилизационного, холодового и этанолового стрессов было отмечено понижение количества молочнокислых бактерий в 5,2, 1,5 и 1,4 раза соответственно (см. табл. 1). Воздействие иммобилизационного стресса способствовало уменьшению количества кишечной палочки до $0,30 \cdot 10^5$ КОЕ/г, при действии холодового и этанолового стрессов наблюдали увеличение количества кишечной палочки в 2,6 и 2,3 раза относительно контрольной группы животных (см. табл. 1). Различные модели стресса оказывали влияние и на количество стафилококков. При действии иммобилизационного стресса количество стафилококков увеличилось в 2,4 раза относительно контрольной группы животных (см. табл. 1). Известно, что иммобилизационный

Таблица 1

Влияние лаксарана 1596 и действие различных видов стресса на микрофлору толстого кишечника крыс

Характер воздействия	Количество клеток		
	$M \pm m$		
	10^5 , КОЕ/г		10^3 , КОЕ/г
	Молочнокислые бактерии	Кишечная палочка	Стафилококки
Контрольная группа	3.15 ± 0.21	0.80 ± 0.21	1.20 ± 0.20
Лаксаран 1596	2.70 ± 0.19	$0.30 \pm 0.11^\circ$	0.92 ± 0.22
Иммобилизационный стресс (10 мин)	$0.60 \pm 0.20^\circ$	$0.30 \pm 0.21^\circ$	$2.85 \pm 0.22^\circ$
Холодовой стресс (10 мин)	$2.10 \pm 0.12^\circ$	$2.10 \pm 0.10^\circ$	$0.45 \pm 0.12^\circ$
Этаноловый стресс (10 мин)	$2.15 \pm 0.10^\circ$	$1.80 \pm 0.11^\circ$	$0.75 \pm 0.22^\circ$
Лаксаран 1596 + иммобилизационный стресс (10 мин)	$1.75 \pm 0.21^{\circ\Delta*}$	$0.15 \pm 0.12^{\circ\Delta*}$	$0.85 \pm 0.11^*$
Лаксаран 1596 + холодовой стресс (10 мин)	$3.15 \pm 0.23^\diamond$	$0.65 \pm 0.11^{\Delta\diamond}$	$0.52 \pm 0.13^\circ$
Лаксаран 1596 + этаноловый стресс (10 мин)	$2.10 \pm 0.22^\circ$	$0.53 \pm 0.23^*$	$0.63 \pm 0.20^\circ$

Примечание. $^\circ - P < 0,05$ относительно контрольной группы; $^\Delta - P < 0,05$ относительно лаксарана 1596; $^* - P < 0,05$ относительно иммобилизационного стресса; $^\diamond - P < 0,05$ относительно холодового стресса; $^\bullet - P < 0,05$ относительно этанолового стресса.



стресс является одним из самых сильных видов стресса для животных [13,14]. Действие холодового и этанолового стрессов способствовало уменьшению численности стафилококков в 2.7, 1.6 раз относительно контроля.

Введение лаксарана 1596 животным, которые не были подвергнуты стрессорным факторам, не влияло на рост количества молочнокислых бактерий и стафилококков, но способствовало уменьшению численности кишечной палочки в 2.7 раза относительно контрольной группы животных. Предварительное введение лаксарана 1596 крысам при иммобилизационном стрессе способствовало увеличению количества молочнокислой микрофлоры в 2.9 раза по сравнению с группой животных, которых подвергали данному виду стресса, а также уменьшению в 1.8 раза относительно контрольной группы животных и в 1.5 раза относительно группы животных, получавших лаксаран 1596. Введение лаксарана 1596 за сутки перед действием холодового стресса способствовало увеличению численности молочнокислых бактерий, т. е. приводило к нормализации количества молочнокислой микрофлоры до значений контрольной группы животных (см. табл. 1). Известно, что при действии этанолового стресса в организме животных нарушаются различные физиологические функции [13,14]. Так, предварительное введение лаксарана 1596 при действии этанолового стресса способствовало снижению количества лактобацилл относительно значений контрольной группы животных в 1.5 раза. Предварительное введение лаксарана 1596 крысам при иммобилизационном, холодовом и этаноловом стрессах приводило к уменьшению количества кишечной палочки по сравнению с идентичными стрессами в 2, 3.2 и 3.4 раза соответственно. Введение лаксарана 1596 животным, которых подвергали иммобилизационному стрессу, способствовало

достоверному уменьшению количества кишечной палочки в толстом отделе кишечника крыс в 5.3 раза относительно контрольной группы и в 2 раза относительно группы животных, получавших лаксаран 1596 (см. табл. 1). Введение лаксарана 1596 за сутки до воздействия на крыс холодового стресса не повлияло на рост значений кишечной палочки относительно контрольной группы, способствовало увеличению количества кишечной палочки в 2.2 раза относительно животных, которым вводили лаксаран 1596. Введение животным лаксарана 1596 при действии этанолового стресса не приводило к изменению количества кишечной палочки относительно контроля и группы животных, получавших лаксаран 1596 (табл. 1). Введение лаксарана 1596 способствовало уменьшению количества стафилококков в 3.6 раза при действии иммобилизационного стресса по сравнению с данным видом стресса относительно контрольной группы животных и группы крыс, получавших лаксаран 1596 (см. табл. 1). Введение лаксарана 1596 за сутки до холодового и этанолового стрессов способствовало достоверному снижению количества стафилококков относительно контрольной группы животных в 2.3 и 1.9 раза соответственно и не приводило к изменению численности стафилококков относительно группы животных, получавших лаксаран 1596 (см. табл. 1). Полученные результаты хорошо согласуются с данными других авторов [15], согласно которым нормальная микрофлора обеспечивает колонизационную резистентность организма, т. е. невозможность размножения условно-патогенных и патогенных микроорганизмов на коже и слизистых.

Введение лаксарана 1936 крысам, которых не подвергали изучаемым стрессам, не влияло на количество молочнокислых бактерий, кишечной палочки относительно контрольных значений, но приводило к уменьшению количества стафилококков в 4 раза (табл. 2).

Таблица 2

Влияние лаксарана 1936 и действие различных видов стресса на микрофлору толстого кишечника крыс

Характер воздействия	Количество клеток		
	$M \pm m$		
	10^5 , КОЕ/г		10^3 , КОЕ/г
	Молочнокислые бактерии	Кишечная палочка	Стафилококки
Контрольная группа	3.15 ± 0.21	0.80 ± 0.21	1.20 ± 0.20
Лаксаран 1936	3.70 ± 0.32	0.45 ± 0.11	$0.30 \pm 0.12^\circ$
Иммобилизационный стресс (10 мин)	$0.60 \pm 0.20^\circ$	$0.30 \pm 0.21^\circ$	$2.85 \pm 0.22^\circ$
Холодовой стресс (10 мин)	$2.10 \pm 0.12^\circ$	$2.10 \pm 0.10^\circ$	$0.45 \pm 0.12^\circ$
Этаноловый стресс (10 мин)	$2.15 \pm 0.10^\circ$	$1.80 \pm 0.11^\circ$	$0.75 \pm 0.22^\circ$
Лаксаран 1936 + иммобилизационный стресс (10 мин)	$0.30 \pm 0.21^\circ \Delta^*$	0.45 ± 0.21	$0.85 \pm 0.11 \Delta^*$
Лаксаран 1936 + холодовой стресс (10 мин)	$6.75 \pm 0.13^\circ \Delta^\diamond$	$0.11 \pm 0.10^\circ \Delta^\diamond$	$0.21 \pm 0.10^\circ$
Лаксаран 1936 + этаноловый стресс (10 мин)	$3.15 \pm 0.24^*$	$0.15 \pm 0.12^{\circ*}$	$0.45 \pm 0.12^\circ$

Примечание. $^\circ$ – $P < 0,05$ относительно контрольной группы; Δ – $P < 0,05$ относительно лаксарана 1596; * – $P < 0,05$ относительно иммобилизационного стресса; $^\diamond$ – $P < 0,05$ относительно холодового стресса; $^{\circ*}$ – $P < 0,05$ относительно этанолового стресса.



Предварительное введение лаксарана 1936 за сутки до воздействия на животных иммобилизационным стрессом приводило к угнетению роста количества молочнокислых бактерий в 2, 10.5 и 12.3 раза относительно иммобилизационного стресса, контрольной группы животных и лаксарана 1936 (см. табл. 2). При действии холодого и этанолового стрессов введение лаксарана 1936 приводило к увеличению количества молочнокислой микрофлоры в 3.2 и 1.5 раза по сравнению с данными видами стрессов. Воздействие холодого стресса на группу животных, которым вводили лаксаран 1936, способствовало увеличению количества лактобацилл и стрептококков относительно контрольной группы животных в 2.1 раза и относительно группы животных, получавших лаксаран 1936 в 1.8 раза (см. табл. 2). Действие этанолового стресса в группе животных, которым вводили лаксаран 1936, приводило к нормализации значений молочнокислой микрофлоры до уровня контроля и не изменяло роста лактобацилл относительно животных, получавших лаксаран 1936 (см. табл. 2). Предварительное введение лаксарана 1936 при действии иммобилизационного стресса не изменяло значений кишечной палочки относительно контроля и приводило к нормализации до уровня группы животных, которым вводили лаксаран 1936 (см. табл. 2). Введение лаксарана 1936 за сутки до холодого стресса способствовало уменьшению количества кишечной палочки в 19.1 раза относительно холодого стресса и уменьшению в 7.2 и 4.1 раза относительно контрольных значений и группы животных, получавших лаксаран 1936 (см. табл. 2). При действии этанолового стресса введение лаксарана 1936 уменьшало в 12 и 5.3 раза количество кишечной палочки по сравнению со значениями этанолового стресса и контроля, но не изменяло численности

кишечной палочки относительно группы животных, получавших лаксаран 1936 (см. табл. 2). Введение лаксарана 1936 за сутки до воздействия стрессов способствовало уменьшению количества стафилококков в 3.4 раза, а в случае иммобилизационного стресса по сравнению с данным видом стресса в случае холодого и этанолового стрессов не приводило к изменению численности стафилококков относительно значений идентичных стрессов (см. табл. 2). Предварительное введение лаксарана 1936 в случае иммобилизационного стресса не изменяло количество стафилококков относительно контрольных значений и увеличивало в 2.8 раза относительно животных, получавших данный полисахарид (см. табл. 2). Действие холодого и этанолового стрессов способствовало уменьшению численности стафилококков относительно контрольных значений в 5.7 и 2.7 раза соответственно и не влияло на изменение количества стафилококков относительно группы животных, получавших лаксаран 1936 (см. табл. 2). Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о том, что лаксаран 1936 благоприятно воздействует на микрофлору толстого отдела кишечника самок крыс при всех взятых в эксперимент стрессах.

Введение лаксарана Z животным, которых не подвергали действию стрессов, способствовало увеличению количества молочнокислых бактерий в 1.3 раза, уменьшению численности кишечной палочки в 5.3 раза и стафилококков в 2.7 раза относительно контрольной группы животных (табл. 3).

Предварительное введение лаксарана Z при действии иммобилизационного стресса приводило к увеличению количества молочнокислой микрофлоры в 4.2 раза относительно данного вида стресса, уменьшению количества молочнокислых бактерий в 1.3 и 1.6 раза относительно контроля

Таблица 3

Влияние лаксарана Z и действие различных видов стресса на микрофлору толстого кишечника крыс

Характер воздействия	Количество клеток		
	$M \pm m$		
	10^5 , КОЕ/г		10^3 , КОЕ/г
	Молочнокислые бактерии	Кишечная палочка	Стафилококки
Контрольная группа	3.15 ± 0.21	0.80 ± 0.21	1.20 ± 0.20
Лаксаран Z	$4.12 \pm 0.11^\circ$	$0.15 \pm 0.21^\circ$	$0.45 \pm 0.11^\circ$
Иммобилизационный стресс (10 мин)	$0.60 \pm 0.20^\circ$	$0.30 \pm 0.21^\circ$	$2.85 \pm 0.22^\circ$
Холодовой стресс (10 мин)	$2.10 \pm 0.12^\circ$	$2.10 \pm 0.10^\circ$	$0.45 \pm 0.12^\circ$
Этаноловый стресс (10 мин)	$2.15 \pm 0.10^\circ$	$1.80 \pm 0.11^\circ$	$0.75 \pm 0.22^\circ$
Лаксаран Z + иммобилизационный стресс (10 мин)	$2.52 \pm 0.21^\circ \Delta^*$	$0.45 \pm 0.14^\Delta$	$0.42 \pm 0.11^\circ*$
Лаксаран Z + холодого стресс (10 мин)	$2.40 \pm 0.17^\circ \Delta$	$0.75 \pm 0.14^\Delta \diamond$	$0.33 \pm 0.15^\circ$
Лаксаран Z + этаноловый стресс (10 мин)	$2.20 \pm 0.12^\circ \Delta$	$0.51 \pm 0.11^\Delta \bullet$	$0.31 \pm 0.13^\circ$

Примечание. $^\circ - P < 0,05$ относительно контрольной группы; $^\Delta - P < 0,05$ относительно лаксарана 1596; $^* - P < 0,05$ относительно иммобилизационного стресса; $^\diamond - P < 0,05$ относительно холодого стресса; $^\bullet - P < 0,05$ относительно этанолового стресса.



и группы животных, получавших лаксаран Z, соответственно (см. табл. 3). По литературным данным известно, что действие холода на организм животных проявляется в нарушении работы его функциональных систем [14]. Введение лаксарана Z за сутки перед действием холодового стресса не отразилось на количестве молочнокислых бактерий в группе крыс, которых подвергали идентичному виду стресса, но способствовало снижению количества молочнокислых бактерий в 1.3 раза относительно контрольной группы животных и в 1.7 раза относительно животных, получавших лаксаран Z (см. табл. 3). По результатам проведенных исследований показано, что действие этанолового стресса на фоне лаксарана Z не изменяло рост молочнокислых бактерий и способствовало уменьшению количества молочнокислых бактерий в 1.4 раза относительно контроля и в 1.9 раза относительно группы животных, получавших лаксаран Z (табл. 3). Предварительное введение лаксарана Z животным за сутки до иммобилизационного стресса не изменяло количество кишечной палочки относительно данного вида стресса и контрольной группы животных, но способствовало увеличению в 3 раза относительно группы животных, получавших лаксаран Z (см. табл. 3). При действии холодового и этанолового стрессов введение лаксарана Z приводило к уменьшению значений кишечной палочки в 2.8 и 3.5 раза соответственно относительно групп животных, которых подвергли идентичным видам стресса (см. табл. 3). Введение лаксарана Z крысам при действии холодового и этанолового стрессов не приводило к изменению значений кишечной палочки относительно контроля, но способствовало увеличению в 5 и 3.4 раза относительно группы животных, получавших лаксаран Z (см. табл. 3). Предварительное введение лаксарана Z крысам за сутки до иммобилизационного стресса не влияло на изменение количества стафилококков относительно группы животных, получавших лаксаран Z, но приводило к уменьшению количества стафилококков в 6.8 и 2.9 раза относительно данного вида стресса и контрольных значений соответственно. При действии холодового стресса введение лаксарана Z не изменяло количество стафилококков относительно холодового стресса и группы животных, получавших лаксаран Z, но способствовало уменьшению в 3.6 раза по сравнению со значениями контрольной группы (см. табл. 3). Предварительное введение лаксарана Z при этаноловом стрессе не изменяло количества стафилококков относительно данного вида стресса и группы животных, получавших лаксаран Z, но приводило к уменьшению численности ста-

филококков в 3.9 раза относительно контрольной группы животных (см. табл. 3).

Таким образом, на основании полученных результатов можно говорить о том, что лаксараны способны в организме животных увеличивать количество молочнокислых бактерий, как в случае с лаксараном 1936 при действии холодового стресса, так и уменьшать количество условно-патогенной микрофлоры (кишечной палочки и стафилококков в случае с лаксаранами 1596, 1936 и Z при всех рассмотренных видах стрессов), т. е. выполнять роль пребиотиков. Возможно, лаксараны, наряду с бактерицидными свойствами в отношении исследуемых бактерий, могут выполнять и питательную функцию, что является характерным для многих полисахаридов. Недостаточная изученность роли бактериальных ЭПС в организме животных требует дальнейших исследований их биологической активности. Однако проведенные исследования свидетельствуют о том, что лаксараны способны нормализовать микрофлору толстого кишечника крыс в условиях стресса в организме животных.

Список литературы

1. Шендеров Б. А. Антимикробные препараты и нормальная микрофлора. Проблемы и возможные пути их решения // Антибиотики и химиотерапия. 1988. Т. 33, № 12. С. 921–926.
2. Ташиулатов Р. Ю. Пути возникновения у людей инфекционных заболеваний, вызванных представителями нормальной микрофлоры // Проблемы клинической микробиологии в неинфекционной клинике: тез. докл. Винница ; М., 1983. С. 182–183.
3. Лизько Н. Н. Видовой пейзаж бифидофлоры кишечника в норме и при дисбактериозе // Проблемы клинической микробиологии в неинфекционной клинике: тез. докл. Винница ; М., 1983. С. 180–181.
4. Лизько Н. Н. Новые экспериментальные модели в микроэкологии // Антибиотики и химиотерапия. 1989. Т. 34, № 6. С. 443–447.
5. Кикалова Т. П. Биологическая активность лектина *Raenibacillus polytuxa* in vitro и в организме животных : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2009. 24 с.
6. Неверова Н. Н. Изучение роли лектинов *Raenibacillus polytuxa* в регуляции метаболизма животных : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2008. 24 с.
7. Полукаров Е. В., Жемеричкин Д. А., Карпунина Л. В. Выделение экзополисахаридов *Lactobacillus delbrueckii subsp. ssp. bulgaricus* при различных условиях культивирования // Вестн. Сарат. госагроун-та им. Н. И. Вавилова. 2009. № 4. С. 20–23.
8. Анищенко Т. Г. Половые аспекты проблемы стресса и адаптации // Успехи современной биологии. 1991. Т. 111, № 3. С. 460–475.
9. Костенко Т. С. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. М., 2001. 344 с.



10. *Артемьева С. А., Артемьева Т. Н.* Справочник по микробиологическому контролю мяса, животных, птицы, яиц и продуктов их переработки. М., 2002. 282 с.
11. *Хоулт Д.* Определитель бактерий Берджи. М., 1997. С. 574–577.
12. *Воробьев В. Я., Елсуков А. И.* Теория и эксперимент. Минск, 1989. 109 с.
13. *Эверли Дж. С., Резенфельд Р.* Стресс: природа и лечение. М., 1981. 185 с.
14. *Коцеев В. С.* Физиология и гигиена индивидуальной защиты человека от холода. М., 1981. 287 с.
15. *Кориунов В. М.* Нормальная микрофлора кишечника. Диагностика, профилактика и лечение дисбактериозов кишечника : учеб. пособие для врачей и студентов. М., 1997. 40 с.

УДК 579.841.11

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА МИКРОБНЫХ СУСПЕНЗИЙ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧНОСТИ БАКТЕРИОФАГА

О. А. Караваяева, О. И. Гулий, С. А. Павлий¹, Д. Ю. Володин¹, О. В. Игнатов

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

¹Саратовский государственный университет

E-mail: karavaeva@ibppm.sgu.ru; gulyi_olga@mail.ru



Изучена возможность использования метода электрооптического анализа клеточных суспензий для определения специфичности бактериофага, выделенного из клеток *Azospirillum brasilense* Sp7, в отношении клеток хозяина и близкородственных штаммов. Для определения селективности также был использован стандартный метод стекающей капли. Эксперименты проводились с клетками бактериальных штаммов *Azospirillum brasilense* Sp7, *Azospirillum brasilense* Sr75, *Azospirillum brasilense* Cd, *Azospirillum brasilense* Sp245, *Azospirillum lipoferum* Sp59b и *Azospirillum brasilense* Sr65. Была установлена корреляция экспериментальных данных, полученных методом электрооптического анализа микробных суспензий и стандартным методом стекающей капли. Сделан вывод о возможности применения метода электрооптического анализа микробных суспензий для определения селективности инфицирования бактериофагами микробных клеток.

Ключевые слова: *Azospirillum brasilense*, бактериофаг, селективность, электрооптический анализ микробных суспензий.

Application of Electrooptical Analysis of Microbial Suspensions Method for Bacteriophage Specificity Determination

O. A. Karavaeva, O. I. Gulyi, S. A. Pavliy, D. Yu. Volodin, O. V. Ignatov

The possibility of using electro-optical analysis of microbial suspensions for determining the specificity of bacteriophage isolated from cells of *Azospirillum brasilense* Sp7 infection of microbial cells was investigated. To determine the selectivity was also used a standard method of falling drops. Method of «falling drops» also was applied for determination of selectivity of the bacteriophage infection of microbial cells. The experiments were conducted with cells of bacterial strains *Azospirillum brasilense* Sp7, *Azospirillum brasilense* Sr75, *Azospirillum brasilense* Cd, *Azospirillum brasilense* Sp245 *Azospirillum lipoferum* Sp59b and *Azospirillum brasilense* Sr65. There was a correlation of experimental data obtained by electro-optical analysis of microbial suspensions and the standard method of «falling drops». The conclusion about possibility of applying the method of electro-optical analysis of microbial suspensions for determining the selectivity of the bacteriophage infection of microbial cells was made.

Key words: *Azospirillum brasilense*, bacteriophages, specificity, electro-optical analysis of microbial suspensions.

Введение

Спектр литического действия бактериофагов – одно из основных биологических свойств. Поэтому при выделении и описании новых фагов определение диапазона их специфического связывания с бактериальными клетками является необходимым этапом исследования [1]. Процедура определения фагочувствительности культуры клеток достаточно длительна. В связи с этим появление метода экспресс-анализа чувствительности микробных клеток к данному бактериофагу является чрезвычайно важным. В настоящее время для этого в большинстве случаев используется метод «стекающей капли» или его модификации [2, 3]. Ранее нами было показано, что в результате действия бактериофага на чувствительные к нему микробы наблюдаются изменения электрооптических (ЭО) параметров суспензий клеток [4].

Цель данной работы – изучение возможности использования метода ЭО анализа клеточных суспензий для определения специфичности бактериофага, выделенного из клеток *Azospirillum brasilense* Sp7, в отношении клеток хозяина и близкородственных штаммов.

Материалы и методы исследования

Микроорганизмы

В работе использовали клетки штаммов *Azospirillum brasilense* Sp7, *A. brasilense* Sr75, *A. brasilense* Sr65, *A. brasilense* Sr55, *A. brasilense* Sp245, *A. lipoferum* Sp59b, *A. brasilense* Cd, полученные из коллекции культур ИБФРМ РАН.

Условия культивирования микробных клеток. Культуры клеток *A. brasilense* Sp7, *Azospirillum*