

BİOLOGİYA

УДК 582.275.01

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ
БАКТЕРИЙ ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ КИСЛОМОЛОЧНЫХ
ПРОДУКТОВ АЗЕРБАЙДЖАНА К АНТИБИОТИКАМ****С.Г.ГЮЛЬАХМЕДОВ***Бакинский Государственный Университет**sahib66@rambler.ru*

*Изучено влияние антибиотиков на рост 11 бактериоциногенных штаммов МКБ, изолированных нами из традиционных кисломолочных продуктов Азербайджана. Все изученные штаммы проявляли чувствительность к пенициллину, ампициллину, хлорамфениколу, эритромицину и рифомицину. Штаммы *E. faecium* S5 и J1-48 проявляли резистентность по отношению к ванкомицину. Устойчивость к гентамицину была обнаружена у *Lactobacillus rhamnosus* FAZ 16т, *L. casei* Q7, *Enterococcus faecium* штаммы M13, S5, J1-48 и *E. faecales* Sh66. Штаммы *E. faecium* M13, S5 и *E. faecales* Sh66 проявляли устойчивость также к метронидозолу.*

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, чувствительность к антибиотикам, пробиотики.

Молочнокислые бактерии (МКБ) широко применяются в процессе изготовления различных ферментированных кисломолочных и растительных продуктов. Будучи частью нормальных микрофлор и колонизируя слизистую пищеварительного и урогенитального трактов человека и животных, они используются также в качестве пробиотиков. Эти обстоятельства выводят на первый план безопасность МКБ, связанная с их устойчивостью к различным антибиотикам (1, 2, 14). Считается, что МКБ могут быть носителями генов устойчивости к антибиотикам и эти гены могут передаваться к другим представителям резидентной флоры, в том числе и к патогенным бактериям. Теоретически, данные свойства МКБ могут превращать их в резервуар генов устойчивости к антибиотикам (9, 12). В литературных источниках факты о присутствии таких генов в МКБ

и передачи их в патогенные микробы малы, но все - же имеют место (12). Сниженная восприимчивость к некоторым антибиотикам не является особо распространенным и общим свойством МКБ пищевого происхождения, включая стартерных и пробиотических культур. Большинство этих резистентностей связано с комплексом внутренних свойств МКБ, таких, как структура их клеточной оболочки и метаболическая особенность бактериальных клеток (11). Проблеме устойчивости МКБ к антибиотикам, особенно представителям рода *Lactobacillus*, выделилось мало внимание. Однако исследования в этом направлении имеют большое значение для установления безопасности всех потенциальных пробиотиков и генетически модифицированных штаммов, применяемых в биотехнологии (4, 10).

В настоящей работе мы исследовали влияние различных антибиотиков на рост бактериоциногенных штаммов МКБ, изолированных нами из традиционных кисломолочных продуктов Азербайджана.

Материалы и методы исследования

МКБ изолировали из различных традиционных кисломолочных продуктов, изготовленных в домашних условиях разных регионов Азербайджана и отличающихся между собой по технологии приготовления и хранили в 20 об./% глицерине при -20°C .

Для изучения чувствительности штаммов МКБ к антибиотикам использовали диск – диффузионный метод. При этом в основу брали стандарты NCCLS – 1997 (13). В качестве стандартной среды для диффузионных тестов использовали агаровую пластинку Мюллера и Хиньтона (3). 0,1 мл разведенный в 10 раз свежей культуры штаммов наслаивали на тестовую пластинку и до нанесения дисков с антибиотиками (Оксоид), положили в холодильник на 30 мин. Далее чашки инкубировали при 37°C в течение 24 ч. Опыты повторяли трижды. По диаметру зоны ингибирования, согласно стандартам Charteris (1998) (4), штаммы делили на устойчивые (У), умеренно чувствительные (УЧ) и чувствительные группы (табл.). Были использованы тест-диски, погруженные в растворы антибиотиков, ингибирующих синтез компонентов клеточной стенки (ампициллин, цефотаксим, пенициллин G и ванкомицин), синтез белка (канамицин, стрептомицин, гентамицин, хлорамфеникол и эритромицин), а также синтез ДНК (рифамицин, офлоксацин и метронидазол).

Таблица

**Антибиотики и диаметры зон ингибирования (мм)
для интерпретации чувствительности к ним**

Группы антибиотиков	Антимикробные агенты		Диаметр зоны интерпретации - d (мм)		
	Название	Конц. µg	У	УЧ	Ч
Ингибиторы клеточной стенки	Ампициллин	10	≤ 12	13-15	≥ 16
	Цефотаксим	30	≤ 14	14-22	≥ 23
	Пенициллин G	20	≤ 9	10-13	≥ 14
	Ванкомицин	30	≤ 14	15-16	≥ 17
Ингибиторы синтеза белков	Канамицин	30	≤ 13	14-17	≥ 18
	Стрептомицин	10	≤ 11	12-14	≥ 15
	Гентамицин	10	≤ 12	---	≥ 13
	Хлорамфеникол	30	≤ 13	14-17	≥ 18
Ингибиторы синтеза белков	Эритромицин	15	≤ 13	14-17	≥ 18
	Рифамицин, Офлоксацин	15	≤ 10	11-14	≥ 15
	Метронидазол	5	≤ 13	14-18	≥ 19
		30	≤ 14	15-16	≥ 17

Результаты и их обсуждение

Результаты опытов по определению влияния антибиотиков – ингибиторов синтеза компонентов клеточной стенки отражены на рис. 1. Из этого рисунка видно, что все изученные штаммы проявляли чувствительность к пенициллину и ампициллину. Диаметр (d) чистой зоны вокруг дисков этих антибиотиков на газоне изученных бактериоциногенных штаммов превышал 17 мм. Все изолированные штаммы рода *Lactobacillus*, кроме этих антибиотиков были чувствительны еще и к ванкомицину. Что касается представителей рода *Enterococcus*, то они по-разному реагировали на этот антибиотик. Штаммы *E. faecium* M13 и Q1 оказались чувствительными (d > 17mm), *E. faecium* L8 и *E. faecales* Sh66 – умеренно чувствительными (d=15mm), а штаммы *E. faecium* S5 и J1-48 проявляли резистентность по отношению к ванкомицину. Ответные реакции исследуемых штаммов МКБ на цефотаксиму также отличались друг от друга. Так, из представителей рода *Lactobacillus* оба штаммы вида *L. paracasei* spp. *Paracasei* BNATS 5w и 8 w, а также штамм *L. cake* Q7 проявили чувствительность этому антибиотику (d > 23mm). Аналогичную реакцию наблюдали также у двух штаммов рода *Enterococcus*, у штаммов *E. faecium* S5 и *E. faecales* Sh66. Умеренную чувствительность наблюдали у всех остальных штаммов, среди которых были представители рода *Lactobacillus* (*L. rhamnosus* FAZ 16m, *L. curvatus* X24) и *Enterococcus* (*E. faecium* штаммы M13, Q1, L8 и J1-48). Значение d чистой зоны вокруг дисков этих антибиотиков на газоне изученных бактериоциногенных штаммов находились в интервале 15 - 22 мм.

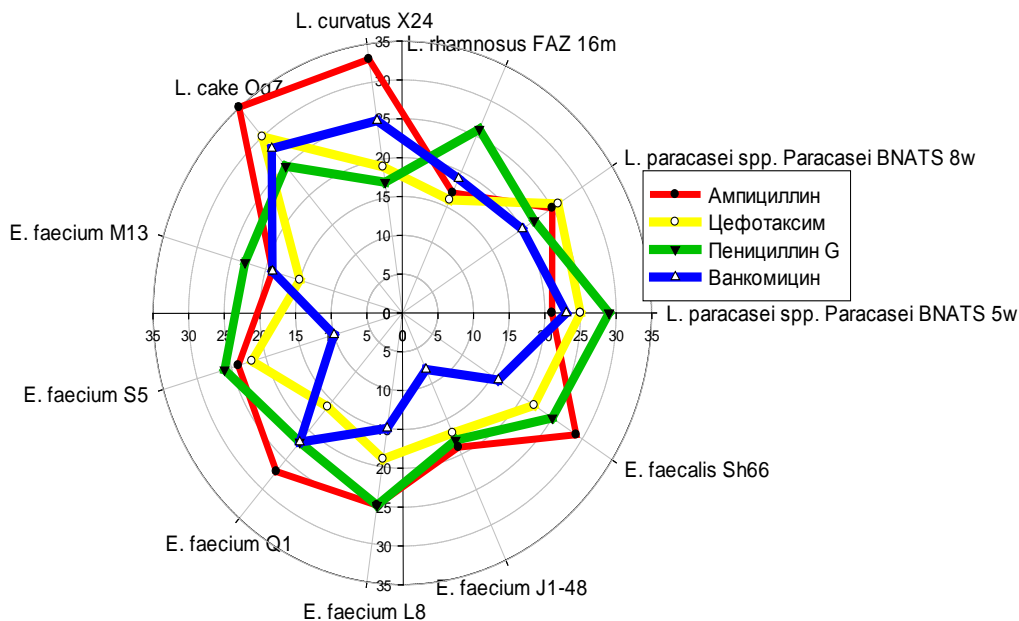


Рис. 1. Влияние антибиотиков – ингибиторов синтеза компонентов клеточной стенки на рост бактериоциногенных штаммов молочнокислых бактерий, изолированных из кисломолочных продуктов Азербайджана (Диаметр чистой зоны вокруг дисков выражали в мм-ах)

На рис. 2 отражены результаты исследования влияния антибиотиков – ингибиторов синтеза белков на рост исследуемых штаммов МКБ. В этой серии экспериментов мы протестировали 5 таких антибиотиков: хлорамфеникол, эритромицин, гентамицин, канамицин и стрептомицин. Как видно из этого рисунка, все изученные штаммы проявляли чувствительность к хлорамфениколу и эритромицину. Значение d чистой зоны вокруг дисков этих антибиотиков на газоне всех изученных бактериоциногенных штаммов превышало 18 мм. Отношение исследуемых штаммов к другим антибиотикам отличались друг от друга. Так, у штаммов *L. rhamnosus* FAZ 16m ($d = 4$) и *L. cake* Q7 ($d = 6$) была обнаружена резистентность к гентамицину. Устойчивость к этому антибиотику показали также 4 штамма рода *Enterococcus* - *E. faecium* штаммы M13 ($d = 9$), S5 ($d = 3$), J1-48 ($d = 7$) и *E. faecalis* Sh66 ($d = 6$). Остальные штаммы проявляли восприимчивость к нему ($d > 13$). Среди представителей рода *Lactobacillus* устойчивость к канамицину проявляли штаммы *L. paracasei* spp. *Paracasei* BNATS 5w и BNATS 8 w, а также *L. cake* Q7 ($d < 13$).

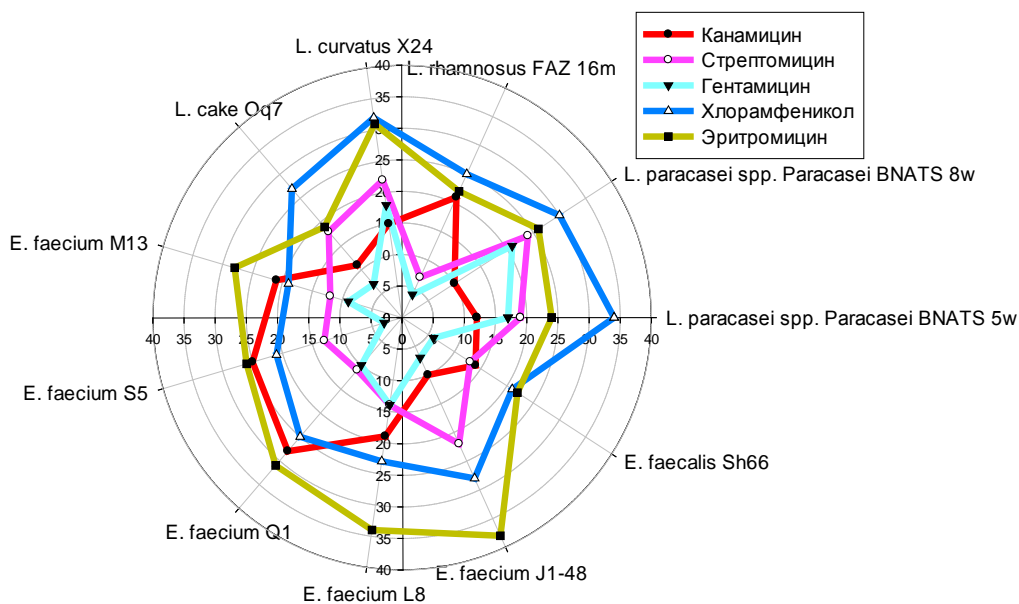


Рис. 2. Влияние антибиотиков – ингибиторов синтеза белков на рост бактериоциногенных штаммов молочнокислых бактерий, изолированных из кисломолочных продуктов Азербайджана (Диаметр чистой зоны вокруг дисков выражали в мм-ах)

Штамм *E. faecium* J1-48 также оказался резистентным к канамицину. Умеренная чувствительность была обнаружена у штамма *E. faecalis* Sh66 ($d = 15$). Остальные же штаммы (*L. rhamnosus* FAZ 16m, *L. curvatus* X24, *E. faecium* M13, S5, L8 и J1-48), судя по полученным данным, были чувствительными к этому антибиотику.

Что касается стрептомицина, то штаммы *L. paracasei* spp. *Paracasei* BNATS 5w и BNATS 8 w, *L. curvatus* X24, *L. cake* Q7 и *E. faecium* J1-48 оказались чувствительными ($d > 11$), штаммы *E. faecium* M13, S5, L8 и *E. faecalis* Sh66 – умеренно чувствительными ($d = [12; 14]$), а штаммы *L. rhamnosus* FAZ 16m и *E. faecium* Q1 – резистентными ($d < 11$) к этому антибиотику (Рис.2).

В третьей части этих опытов мы проверяли влияние антибиотиков, ингибирующих синтеза ДНК - рифамицина, офлоксацина и метронидазоля на рост исследуемых штаммов МКБ. Результаты этих тестов отражены на рис. 3. Из этого рисунка следует, что не один из исследуемых штаммов не могли нормально расти в присутствии рифомицина. При этом штаммы *E. faecium* S5 и *E. faecalis* Sh66 проявляли умеренную чувствительность к этому антибиотику. Изолированные штаммы рода *Lactobacillus*, кроме этих антибиотиков были чувствительны еще и метронидазолу.

Однако штаммы *E. faecium* M13, S5 и *E. faecalis* Sh66 проявляли устойчивость к нему. Умеренную чувствительность метронидазолу об-

наружили у штамма *E. faecium* J1-48, а выраженную чувствительность, у штаммов *E. faecium*. Что касается офлоксацина, то большинство штаммов рода *Lactobacillus* оказались устойчивыми к этому антибиотику. Чувствительность к нему была обнаружена только у трех штаммов рода *Enterococcus* - *E. faecium* штаммы Q1 (d = 23мм) и L8 (d = 25мм), а так же *E. faecalis* штамм Sh66 (d = 28мм). Штаммы *L. cake* Q7 (d = 15мм) и *E. faecium* J1-48 (d = 18мм) проявляли умеренную чувствительность офлоксацину.

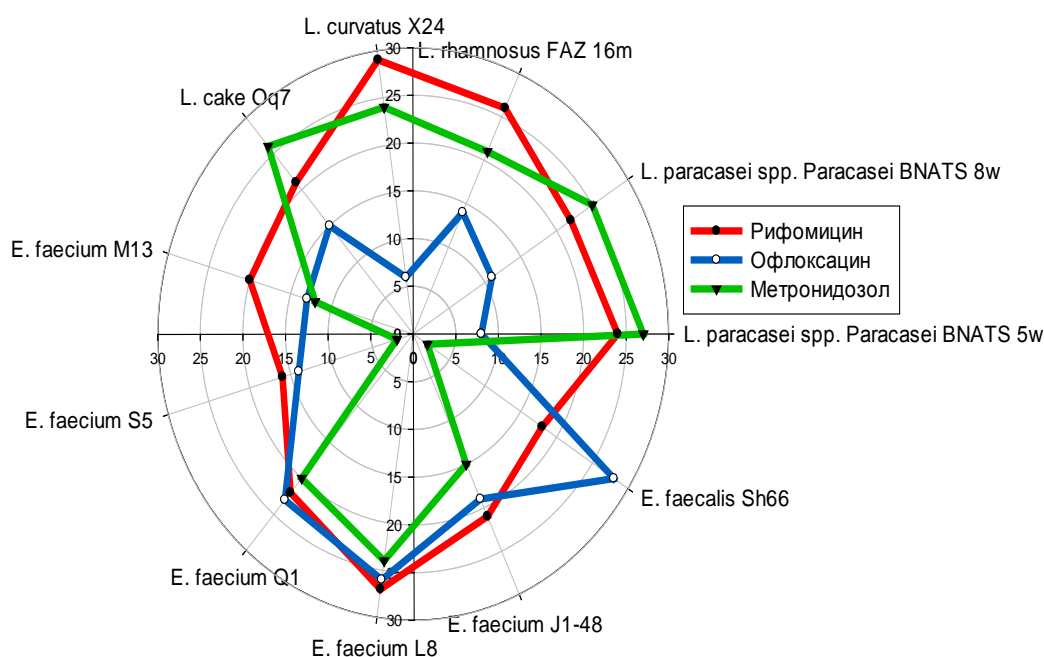


Рис. 3. Влияние антибиотиков – ингибиторов синтеза ДНК на рост бактериоциногенных штаммов молочнокислых бактерий, изолированных из кисломолочных продуктов Азербайджана (Диаметр чистой зоны вокруг дисков выражали в мм-ах)

Таким образом, в этой работе мы изучили влияние 12 различных антибиотиков на рост 11 бактериоциногенных штаммов МКБ, изолированных из традиционных кисломолочных продуктов нашей страны. Результаты этих экспериментов показали, что все изученные штаммы проявляли в разной степени чувствительность к таким широко применяемым в современной медицине антибиотикам, как пенициллину, ампициллину, эритромицину, хлорамфениколу и рифомицину, что создает предпосылку для использования этих штаммов в качестве пробиотиков. Полученные данные хорошо согласуются с результатами Hummel et al., 2007 (9) и Hadji-Sfaxi et al., 2011 (8), которые установили, что большинство штаммов родов *Lactobacillus* и *Enterococcus* чувствительны к этим антибиоти-

кам. С другой стороны, около 60% наших штаммов были чувствительными к гентамицину, что ближе к результатам Elsayed, 2007 (5), но не согласуется с данными Hummel et al., 2007 (9), что может быть связано с экологическими условиями обитания этих микробов. По литературным данным, представители рода *Lactobacillus* не редко проявляют устойчивость к ванкомицину (9, 11, 12). Однако около 79 % таких бактерий, изолированных из Египетских сыров были чувствительными этому антибиотику (5). Все штаммы рода *Lactobacillus*, выделенные нами также были чувствительными к ванкомицину.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гюльяхмедов С.Г., Алиева А.А., Кулиев А.А. Антимикробная активность вагинальных молочнокислых бактерий // AP Təhsil Səmiyyəti. Bilgi dərgisi, kimya, biologiya, tibb seriyası, 2006, № 4, s. 49-54
2. Avlami A., Kordossis T., Vrizidis N. and Sipsas N. V. *Lactobacillus Rhamnosus* Endocarditis Complicating Colonoscopy. // J. Infect., 2001, No 42, pp. 283-285
3. Chang Y.H., Kim J.K., Kim H.J., Kim W.Y., Kim Y.B. and Park Y.H. Selection of a Potential Probiotic *Lactobacillus* Strain and Subsequent *in-vivo* Studies. // Antonie Van Leeuwenhoek, 2001, No 80, pp. 193-198
4. Charteris W.P., Kelly P.M., Morelli L. and Collins J.K. Antibiotic Susceptibility of Potentially Probiotic *Lactobacillus* Species. // J. Food Prot. 1998, № 61, pp. 1636-1643
5. Elsayed A.I. Characterization and Genetic Improvement of *Lactobacilli* for Application in Probiotic Dairy Products. // Dissertation PhD. 2007, pp. 89-90
6. Gulahmadov S., Abdullayeva N., Guseynova N. et al. Isolation and Characterization of Bacteriocin-like Inhibitory Substances from lactic Acid Bacteria Isolated from Azerbaijani Cheeses // J. Appl. Biochem. Microbiol., 2008, v.6, p.275-283
7. Gulahmadov S., Batdorj B., Dalgalarondo M. et al. Characterization of Bacteriocin-like Inhibitory Substances (BLIS) from Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Azerbaijani Dairy Products // Europe Food Rec. Techn. Springer Verlag, 2006, No224, p. 338-345
8. Hadji-Sfaxi I., El-Ghaish S., Ahmadova A. et al. Antimicrobial Activity and Safety of use of *Enterococcus faecium* PC4.1 isolated from Mongol yogurt // Food Control, 2011, v.22, p.2020-2027
9. Hummel A.S., Hertel C., Holzapfel W.H. and Franz C.M.A.P. Antibiotic Resistance of Starter and Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria. // Appl. Environ. Microbiol., 2007, v.68, No 3, pp. 730-739
10. Huys G., D'Haene K., Swings J. Influence of Culture Medium on Antibiotic Susceptibility Testing of Food-associated Lactic Acid Bacteria. // Lett. Appl. Microbiol., 2002, No 34, pp. 402-406
11. Kastner S., Perreten V., Bleuler H., Hugenschmidt G., Lacroix C. and Meile L. Antibiotic Susceptibility Patterns and Resistance Genes of Starter Cultures and Probiotic Bacteria used in Food. // Syst. Appl. Microbiol., 2006, v.29, No 2, pp. 145-155
12. Mathur S. and Singh R. Antibiotic Resistance in Food Lactic Acid Bacteria – a Review. // Int. J. Food Microbiol., 2005, v.105, No 3, pp. 281-295
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards -1997. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. 4th Edn. Approved Standard. NCCLS Publication No M11-A4. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA
14. Suskovic J., Brkic B., Matosik S. and Maric V. *Lactobacillus Acidophilus* M92 as Potential Probiotic Strain. // Milchwissenschaft, 1997(a) v.52, No 8, pp. 430-435

**AZƏRBAYCANIN TURŞSÜD MƏHSULLARINDAN İZOLƏ EDİLMİŞ
SÜD TURŞUSU BAKTERİYALARININ ANTİBİOTİKLƏRƏ QARŞI HƏSSASLIĞI**

S.Q.GÜLƏHMƏDOV

XÜLASƏ

Azərbaycanın ənənəvi turşsüd məhsullarından izolə edilmiş 11 bakteriosinogen süd turşusu bakteriyalarının böyüməsinə antibiotiklərin təsiri öyrənilmişdir. Tədqiq edilmiş bütün ştamlar penisillinə, ampicillinə, xloramfenikola, eritromisinə və rifomisinə qarşı həssas olmuşlar. *E. faecium* S5 və J1-48 ştamları vankomisinə qarşı, *Lactobacillus rhamnosus* FAZ 16m, *L. cake* Q7, *Enterococcus faecium* növünə məxsus M13, S5, J1-48 ştamları və *E. faecales* Sh66 ştamı isə gentamisinə qarşı davamlılıq nümayiş etdirmişlər. *E. faecium* M13, S5 və *E. faecales* Sh66 ştamları, həmçinin metronidozola qarşı da davamlı olmuşlar.

Açar sözlər: süd turşusu bakteriyaları, antibiotiklərə qarşı həssaslıq, probiotiklər

**ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY PATTERNS OF LACTIC ACID BACTERIA
STRAINS ISOLATED FROM AZERBAIJANI DAIRY PRODUCTS**

S.G.GULAHMADOV

SUMMARY

The effect of antibiotics on the growth of 11 bacteriocinogenic LAB strains, isolated from traditional Azerbaijani dairy products was studied. All the studied strains were sensitive to penicillin, ampicillin, chloramphenicol, erythromycin and rifomycin. Strains of *E. faecium* S5 and J1-48 showed relative resistance to vancomycin. Resistance to gentamicin was found in *Lactobacillus rhamnosus* FAZ 16m, *L. cake* Q7, *Enterococcus faecium* strains M13, S5, J1-48 and *E. faecales* Sh66. Strains of *E. faecium* M13, S5 and *E. faecales* Sh66 also showed resistance to metronidazol.

Key words: lactic acid bacteria, antibiotic susceptibility, probiotics.

Поступила в редакцию: 05.03.2015 г.

Подписано к печати: 21.04.2015 г.