

ВЛИЯНИЕ ОЗОНА НА АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ЛАКТОБАКТЕРИЙ

А. А. ИСМАИЛОВ,
аспирант, Северо-Кавказский федеральный университет,
Л. Д. ТИМЧЕНКО,
доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией,
Н. И. БОНДАРЕВА,
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
ПНИЛ Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии,
иммунобиотехнологии Северо-Кавказского федерального университета
(355029, г. Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1; тел.: +7 928 024-55-99, +7 905 417-30-22, +7 906 442-75-17; e-mail: Ali_g.88@mail.ru)

Ключевые слова: лактобактерия, адгезия, озон, адгезивные свойства, микроорганизмы.

Озон в силу своего мощного дезинфицирующего действия все чаще используется в различных сферах применения. Большое внимание при этом уделяется изучению воздействия озона на различные виды микроорганизмов, однако малоизученным остается вопрос его влияния на адгезивный потенциал бактерий. Между тем, адгезия эубиотических микроорганизмов на эпителиоцитах слизистых поверхностей является основополагающим фактором колонизационной резистентности, обеспечивающим стабильность и защитные свойства микрофлоры макроорганизма. В статье ставится задача рассмотреть влияние озона на адгезивные свойства лактобактерий. Для этого проводилось озонирование штамма лактобактерий *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 при различных режимах. Режимы озонирования определялись временем барботирования, при сохранении постоянной скорости, мощности и температуры. Концентрация озона измерялась методом йодометрического титрования и при барботировании с постоянной скоростью 0,5 л/мин, мощностью 100 % и температурой 20 °С в течении 5 мин составила 0,38 мг/л, 2 мин — 0,29 мг/л. Адгезивные свойства изучали на эритроцитах человека по методике В. И. Брилиса. Количество адгезированных микроорганизмов подсчитывали в мазке, окрашенной по Романовскому-Гимзе. Оценивали следующие показатели адгезии: коэффициент адгезии (КА, %), средний показатель адгезии (СПА), индекс адгезивности микроорганизмов (ИАМ). При озонировании в течение двух минут происходит снижение среднего показателя адгезии на 41,4 %, при пяти минутах — снижение на 67,2 %. На основании анализа проведенных исследований установлен дозозависимый эффект воздействия озона на адгезивные свойства *Lactobacillus plantarum* 8P-A3. С возрастанием дозы озона в пределах используемых концентраций адгезивность лактобактерий снижается.

EFFECT OF OZONE ON ADHESIVE OF LACTOBACTERIA PROPERTIES

A. A. ISMAYILOV,
post-graduate student, North-Caucasian Federal University,
L. D. TIMCHENKO,
doctor of veterinary sciences, professor, chief of laboratory,
N. I. BONDAREVA,
candidate of biological sciences, senior researcher,
Problem Research Laboratory "Experimental immunomorphology, immunopathology,
immunobiotechnology" in the center of collective use of scientific equipment,
North-Caucasian Federal University
(1 Pushkina Str., 355029, Stavropol; tel.: +7 928 024-55-99, +7 905 417-30-22, +7 906 442-75-17; e-mail: Ali_g.88@mail.ru)

Keywords: lactobacillus, adhesion, ozone, adhesive properties, microorganisms.

Ozone, due to its powerful disinfecting effect, is increasingly used in various applications. Much attention is paid to the study of the effect of ozone on various types of microorganisms, but the question of its effect on the adhesive potential of bacteria remains poorly known. Meanwhile, the adhesion of eubiotic microorganisms on the epithelial cells of mucosal surfaces is a fundamental factor of colonization resistance, providing stability and protective properties of the microorganisms of the macroorganism. The aim of the article is to consider the effect of ozone on the adhesive properties of lactobacilli. For this purpose, the lactobacillus strain *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 was ozonized at various regimes. The modes of ozonation were determined by the bubbling time, while maintaining constant speed, power and temperature. The concentration of ozone was measured by iodometric titration and when bubbling at a constant rate of 0.5 l/min, 100 % power and 20 °C temperature for 5 minutes was 0.38 mg/l, 2 min — 0.29 mg/l. Adhesive properties were studied on human erythrocytes by the method of V. I. Brilis. The number of adherent microorganisms was counted in a smear stained by Romanovsky-Giemsa. The following adhesion values were evaluated: adhesion coefficient (KA, %), average adhesion index (SPA), microorganism adhesion index (IAM). When ozonizing for two minutes, the average adhesion index decreases by 41.4 %, with five minutes — a decrease of 67.2 %. Based on the analysis of the conducted studies, a dose-dependent effect of ozone exposure on the adhesive properties of *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 was established. With increasing ozone dose within the limits of used concentrations, the adhesiveness of lactobacilli decreases.

Положительная рецензия представлена И. В. Жарниковой, доктором биологических наук, старшим научным сотрудником Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора.

Свойство озона оказывать ингибирующее действие на рост микроорганизмов, вплоть до полной их инактивации, считается одним из основных проявлений его биологического действия. Эффекты действия как больших, так и малых доз озона на биологические системы могут представлять интерес с точки зрения обоснованного применения его в практике, например, в ветеринарии, медицине, микробиологических и других направлениях. В литературе все чаще встречаются данные об использовании озона в ветеринарных целях [3].

В настоящее время накоплен большой материал по изучению воздействия озона на микроорганизмы. Однако большинство из этих сообщений посвящено изменчивости характеристик патогенной и условно патогенной микрофлоры [7]. В то же время практически отсутствуют сведения о влиянии озона на полезную микрофлору организма животных, представителем которой является лактобактерия. Одним из важнейших свойств лактобактерий, позволяющих переживать в биотопах, в том числе под влиянием различных экзогенных факторов, является ее адгезивность, характеризующаяся способностью микроорганизмов адсорбироваться на твердых поверхностях и чувствительных клетках с последующей колонизацией [1, 4].

Цель и методика исследований.

В свете вышеизложенного нами поставлена цель исследовать это свойство лактобактерий под действием озона.

Оценка адгезивной активности под действием озона производилась с использованием штамма лактобактерий *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 [10].

Для генерирования озона использовался универсальный озонатор (ОЗОН-ОВиВ, Украина, г. Харьков), Режимы озонирования определялись временем барботирования (1, 2, 5 минут), при сохранении постоянной скорости 0,5 л/мин, мощности 100 % и температуры 20 °С, представленные в инструкции по эксплуатации к озонатору в качестве дозировок, необходимых для дезинфекции воды [8].

Концентрацию озона измеряли методом йодометрического титрования [6].

Адгезивные свойства как озонированной культуры лактобактерий, так и не озонированной (контрольной), изучали по методике В. И. Брилиса [2]. Использовали формализованные эритроциты человека 0 (I) группы крови Rh+, которые смешивали с одномиллиардной суспензией лактобактерий и инкубировали при 37 °С в течение 30 мин. В мазке, окрашенном по Романовскому-Гимзе, подсчитывали количество адгезированных микроорганизмов.

Коэффициент адгезии (КА, %) определяли путем подсчета процента эритроцитов, имеющих на своей поверхности микроорганизмы от общего числа учитываемых эритроцитов. Средний показатель адгезии (СПА) определяли по среднему числу микроорганизмов, осевших на поверхности одного эритроцита, при подсчете не менее 25 эритроцитов. Индекс адгезивности микроорганизмов (ИАМ), который представляет собой среднее количество микробных клеток на одном эритроците, участвующем в адгезивном процессе. Расчет ИАМ проводили по формуле:

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

Низкоадгезивными считали штаммы при микроскопическом обнаружении до 5 микробных клеток, среднеадгезивными — 5–10, высокоадгезивными — при прилипанию более 10 бактерий на одну клетку [9].

Статистическую обработку проводили при помощи программы PrimerofBiostatistics (Version 4.03).

Результаты исследований.

В ходе проведенных исследований было установлено, что концентрация озона при барботировании с постоянной скоростью 0,5 л/мин, мощностью 100 % и температурой 20 °С в течении 5 мин составила 0,38 мг/л, 2 мин — 0,29 мг/л. При барботировании в течение одной минуты концентрация озона не определялась, так как ее значения были ниже порога чувствительности йодометрического метода [10].

Анализ исследований адгезивной активности позволил отнести исследуемый штамм лактобактерий

Таблица 1
Адгезивная активность лактобактерий под влиянием озона, М ± m
Table 1

Adhesive activity of lactobacilli under the influence of ozone, M ± m

Режим Mode	Время озонирования, мин Time of ozonation, min	Концентрация озона, мг/л Concentration of ozone, mg/l	Коэффициент адгезии (КА, %) Coefficient of adhesion (CA, %)	Средний показатель адгезии (СПА) Average adhesion index (AAI)	Индекс адгезивности микроорганизмов (ИАМ) Index of adhesion of microorganisms (IAM)
1	1	—	82,3 ± 2,05	4,8 ± 0,46	5,8 ± 0,15*
2	2	0,29	70,6 ± 1,76*	3,4 ± 0,40*	4,8 ± 0,12*
3	5	0,38	58,8 ± 1,47*	1,9 ± 0,28*	3,2 ± 0,08*
—	контроль control	—	82,3 ± 2,05	5,8 ± 0,68	7,1 ± 0,17

Примечание: * отличие от контроля статистически достоверно при P < 0,05.

Note: * the difference from the control is statistically significant at P < 0.05.

Lactobacillus plantarum 8P-A3 к среднеадгезивным (5,8 ± 0,68), что согласуется с данными, полученными Назыровой Н. Р., Тимербаевой Р. Х., Туйгуновым М. М., Шаяхметовым И. Ф. [5].

После обработки озоново-кислородной смесью отмечали варьирование адгезивной активности в зависимости от изменения режима озонирования. Так, при первом режиме озонирования показатели изменчивости адгезии *Lactobacillus* недостоверны. При озонировании в течение двух минут происходит сни-

жение среднего показателя адгезии на 41,4 %, при пяти минутах — снижение на 67,2 % (табл. 1.), а интенсивность адгезии при этом минимальная.

Выводы. Рекомендации.

На основании анализа проведенных исследований установлен дозозависимый эффект воздействия озона на адгезивные свойства *Lactobacillus plantarum*. С возрастанием дозы озона в пределах используемых концентраций (от менее 0,29 до 0,38 мг/л) адгезивность лактобактерий снижается.

Литература

1. Иркитова А. Н., Каган Я. Р., Соколова Г. Г. Сравнительный анализ методов определения антагонистической активности молочнокислых бактерий // Биологические науки. 2012. № 3–1. С. 41–44.
2. Катрецкая Г. Г., Маслов Ю. Н., Несчисляев В. А. Антагонистические и адгезивные свойства условно патогенной микрофлоры, выделенной из нижних дыхательных путей, при внебольничных пневмониях // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012. № 1. С. 79–81.
3. Козак Э. С. Научное обоснование обеспечения микробиологической безопасности продукции птицеводства : дис. ... д-ра биол. наук. М., 2013. 360 с.
4. Кругликов В. Д. Научное обоснование возможности применения штаммов пробиотических микроорганизмов и оценка их биологической активности при экспериментальной холере : дис. ... д-ра мед. наук. Саратов, 2014. 284 с.
5. Назырова Н. Р., Тимербаева Р. Х., Туйгунов М. М. Влияние лекарственных растений на метаболизм и адгезивный потенциал промышленного штамма *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 // Бюллетень Башкирского университета. 2006. № 2. С. 59–62.
6. Нормов Д. А., Шевченко А. А., Сапрунова Е. А. Механизм воздействия озоновооздушной смеси на семена кукурузы и методика проведения экспериментального исследования влияния электроозонирования на ростовые процессы семян // Научный журнал КубГАУ. 2015. № 105 (01). С. 1–13.
7. Попов П. А. Технология обеззараживания объектов ветеринарного надзора в птицеводстве с применением озона : дис. ... канд. биол. наук. М., 2013. 132 с.
8. Смирнов А. А. Установка электротехнического озонатора для обеззараживания кормовых смесей : дис. ... канд. тех. наук. М., 2014. С. 20.
9. Шаповал О. Г., Нечаева О. В., Шульгина Т. А. Влияние металлических и углеродных наноструктур на адгезионные свойства грамотрицательных бактерий // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 6. С. 79.
10. Шипицына И. В., Осипова Е. В., Годовых Н. В. Оценка адгезивной активности бактерий, выделенных у пациентов с инфицированными эндопротезами крупных суставов. Курган, 2014. С. 59–61.

References

1. Arkitema A. N., Kagan, Y. R., Sokolova G. G. Comparative analysis of methods of determination of antagonistic activity of lactic acid bacteria // Biological Sciences. 2012. No. 3–1. P. 41–44.
2. Katritzky G. G. Maslov Yu. N., Nesconset V. A. Antagonistic and adhesive properties of conditionally pathogenic microflora, isolated from the lower respiratory tract in community-acquired pneumonia // Herald of Ural Medical Academic Science. 2012. No. 1. P. 79–81.
3. Kozak E. S. Scientific justification to ensure the microbiological safety of poultry products : dis. ... dr. of biol. sc. M., 2013. 360 p.
4. Kruglikov V. D. the Scientific substantiation of possibility of application of strains probiotic microorganisms and evaluation of their biological activity in experimental cholera : dis. ... dr. of med. sc. Saratov, 2014. 284 p.
5. Nazyrova N. R., timerbaeva H. R., Togunov M. M. Effect of medicinal plants on the metabolism and adhesive potential of industrial strains of *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 // The Bulletin of the Bashkir University. 2006. No. 2. P. 59–62.
6. Normov D. A., Shevchenko A. A., Suprunova E. A. the Mechanism of action of ozone-air mixture on corn seeds and the methodology of the experimental study of the effect of electrics on the growth processes of the seeds // The scientific journal of the Kuban state agrarian University. 2015. No. 105 (01). P. 1–13.
7. Popov P. A. Technology of disinfection of objects of veterinary surveillance in poultry with application of ozone : dis. ... cand. of biol. sc. M., 2013. 132 p.
8. Smirnov A. A. Installation of electrical ozonator for disinfection of feed mixtures : dis. ... cand. of tech. sc. M., 2014. P. 20.
9. Shapoval O. G., Nechaeva O. V., Shulgina T. A. Effect of metal and carbon nanostructures on adhesive properties of gram-negative bacteria // Modern Problems of Science and Education. 2014. No. 6. P. 79.
10. Shipitsina I. V., Osipova E. V., Godovykh N. V. Evaluation of adhesive activity of bacteria isolated from patients with infected endoprostheses of large joints. Kurgan, 2014. P. 59–61.