

БИОТЕХНОЛОГИЯ / BIOTECHNOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.150.66>

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДРОЖЖЕВЫХ ГЛЮКОМАННАНОВ С ПАТОГЕННЫМИ И ПРОБИОТИЧЕСКИМИ БАКТЕРИЯМИ *IN VITRO*

Научная статья

Заболоцкая Т.В.^{1,*}, Панявина К.Д.², Штауфен А.В.³

¹ORCID : 0000-0002-9429-2950;

^{1,2,3}Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (t_zabolockaya[at]mail.ru)

Аннотация

В статье приведены результаты влияния глюкоманнанового комплекса (ГМК) клеточной стенки дрожжей на пробиотические штаммы лактобактерий и патогенный микроорганизм – сальмонеллу. Исследования проводили с применением бактериологических методов культивирования, определения биологической концентрации бактерий. В опыте использовали два метода получения глюкоманнанового комплекса: метод ультразвуковой дезинтеграции и ферментативным гидролизом. В опытах прямого взаимодействия выявлено стимулирующее влияние ГМК на пробиотические микроорганизмы и угнетающий эффект в отношении патогенной бактерии. На основании полученных результатов сделаны выводы о возможности получения биологического препарата на основе дрожжевых глюкоманнанов.

Ключевые слова: глюкоманнаны дрожжевых стенок, пребиотики, селективные сорбенты, микотоксины, антагонистическая активность.

INTERACTION OF YEAST GLUCOMANNANS WITH PATHOGENIC AND PROBIOTIC BACTERIA *IN VITRO*

Research article

Zabolotskaya T.V.^{1,*}, Panyavina K.D.², Shtaufen A.V.³

¹ORCID : 0000-0002-9429-2950;

^{1,2,3}K.I. Scriabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology-MBA, Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (t_zabolockaya[at]mail.ru)

Abstract

The article presents the results of the effect of glucomannan complex (GMC) of yeast cell wall on probiotic strains of lactobacilli and pathogenic microorganism – Salmonella. Studies were carried out using bacteriological methods of cultivation, determination of biological concentration of bacteria. Two methods of glucomannan complex production were used in the experiments: ultrasonic disintegration and enzymatic hydrolysis. In direct interaction experiments, the stimulating effect of GMC on probiotic microorganisms and the suppressive effect against pathogenic bacteria were detected. Based on the results obtained, conclusions were drawn about the possibility of obtaining a biological preparation based on yeast glucomannans.

Keywords: yeast wall glucomannans, prebiotics, selective sorbents, mycotoxins, antagonistic activity.

Введение

Актуальную проблему в ветеринарной практике представляют микотоксины, поступающие в организм животных и птиц, главным образом, с кормами растительного происхождения. Попадая в организм, микотоксины отрицательно действуют как на отдельные органы и системы, так и на весь организм в целом. Наиболее распространенным воздействием микотоксинов является снижение потребления корма и, как следствие резкое уменьшение продуктивности животных; иммуносупрессия, снижение устойчивости к заболеваниям; повреждение органов и систем (печень, почки, репродуктивной системы); снижаются воспроизводительные качества, проявляющиеся абортами, низкой оплодотворяемостью, появлением нежизнеспособного молодняка. В корма микотоксины поступают с зараженным микроскопическими грибами сырьем растительного происхождения. Зачастую, заражение сырья происходит одновременно несколькими видами микотоксинов, при этом, даже при низких концентрациях, но в сочетании нескольких видов токсинов проявляется их синергизм, сопровождающийся усилением повреждающего эффекта. Попадая в желудочно-кишечный тракт, микотоксины быстро высвобождаются из корма, активно абсорбируются в тонком отделе кишечника, проникая в кровяное русло, быстро проявляют токсический эффект или накапливаются в органах и тканях организма. Обычно, токсические вещества, попадая в печень, подвергаются биотрансформации, однако, в случае микотоксинов биотрансформация иногда приводит к их переходу в более токсичные формы. Большинство микотоксинов накапливаются в тканях, которые используются для производства пищевых продуктов, или выделяются с молоком, яйцами и другой продукцией животного происхождения, попадая практически в неизменном виде в организм человека. Пораженный микотоксинами организм подвергается атаке патогенными и условно патогенными микроорганизмами, заболевания протекают в более тяжелых формах, зачастую приводят к гибели. Единственным эффективным способом инактивации микотоксинов является применение сорбентных препаратов. Такие общедоступные сорбенты как глины, активированный уголь не вполне подходят в случае микотоксикозов, так как имеют ограниченную сорбционную способность, при значительной концентрации микотоксинов в кормах их необходимо вводить в рацион в очень больших дозировках. При этом такие сорбенты

сильно снижают питательную ценность кормов, что является основным ограничивающим фактором их применения [5], [8], [11].

Вместе с тем, многими зарубежными и отечественными исследователями показано, что некоторые полисахариды могут быть использованы в низких концентрациях для значительного снижения биологической доступности многих типов микотоксинов. Установлено, что адсорбция микотоксинов связана с глюкановым веществом природного происхождения. Подобные волокнистые углеводы устойчивы к разрушению ферментной системой пищеварительного тракта животных [2], [3], [4], [8].

Привлекательной характеристикой для получения подобных сорбентных препаратов является их доступность. Олигосахариды – это неотъемлемая часть клеточной стенки дрожжевой клетки, основу которой составляют маннан-олигосахариды. Исследованиями установлена их высокая сорбционная активность в отношении большинства микотоксинов: афлатоксины, зеараленон, Т-2 токсин, ократоксин А, патулин и дезоксиниваленон, а также способность связывать некоторые патогенные и условнопатогенные микроорганизмы. В этом случае полисахариды действуют в качестве связывающего агента для патогенов, и, таким образом, препятствуют их колонизации на стенках кишечника, поддерживая естественным образом здоровую, сбалансированную микрофлору и улучшая общее состояние здоровья животных в т. ч. для аквакультур [3], [4].

Опыты позволили выявить, что патогены прикрепляются предпочтительно к маннан-олигосахаридам, включенным в пищу или корм, существенно сокращая тем самым количество бактерий, закрепляющихся на поверхности клеток кишечника, а поскольку маннановый комплекс не разрушается пищеварительными энзимами, он может закрепиться на лектинах патогенных бактерий, тем самым предупредит колонизацию ими пищеварительного тракта [1], [7], [9], [10].

Методы и принципы исследования

В работе использовали бактериологические методы исследований. Пребиотическую активность глюкоманнанового комплекса клеточной стенки дрожжей определяли в отношении пробиотических микроорганизмов *Lactobacillus fermentum* и *Lactobacillus plantarum*. Антагонистическую активность глюкоманнанового комплекса определяли в отношении патогенного микроорганизма *Salmonella enteritidis*. Материалами для проведения исследований служили взвеси концентратов глюкоманнанового комплекса биомассы *Saccharomyces cerevisiae*, полученные методом ферментативного гидролиза и ультразвуковой дезинтеграции. Концентрат полисахарида смешивали с суточной культурой бактерий из расчета объемов 1:1, смеси оставляли для реагирования в термостате при температуре +37°C, в течение 2 часов, после чего высевали на плотные питательные среды. Для лактобактерий использовали лактобакагар, для сальмонеллы – мясо-пептонный агар. Каждая серия опытов проводилась в двух повторностях, с аналогичным контролем.

Основные результаты

В ходе проведенных исследований пребиотической активности глюкоманнанового комплекса клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* в отношении лактобактерий был выявлен выраженный пребиотический эффект. Лучшие результаты регистрировали применительно к штамму *Lactobacillus fermentum*. Увеличение биологической концентрации в группе опыта по сравнению с контролем составило 20% (180 микробных клеток против 144 соответственно). Для культуры *Lactobacillus plantarum*, данный показатель был ниже и составил 13% (169 микробных клеток в группе опыта, против 150 в контроле).

В отношении патогенной бактерии *Salmonella enteritidis* при аналогичных условиях была выявлена антагонистическая активность. После воздействия глюкоманнанового комплекса биологическая концентрация сальмонеллы снизилась на 8% (135 микробных клеток в опыте, 147 в контроле).

Обсуждение

Полученные образцы глюкоманнанового комплекса клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae*, обладают выраженным пребиотическим действием в отношении пробиотических бактерий рода *Lactobacillus*, причем наибольший эффект проявлялся в отношении *L. fermentum*, биологическая концентрация данного микроорганизма увеличилась на 20% по сравнению с контролем, что можно расценивать как способность лактобактерий утилизировать олигосахариды в качестве питательных компонентов. Подобное действие, но с меньшей эффективностью (13%), полученный комплекс оказал и на бактерию *L. plantarum*.

В отношении же патогенного микроорганизма полученный комплекс проявил подавляющее действие (биологическая концентрация сальмонеллы в присутствии ГМК снизилась на 8%, по сравнению с контролем).

Полученные в ходе опыта результаты позволяют сделать выводы о способности глюкоманнанового комплекса клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* стимулирующе действовать на представителей нормофлоры пищеварительной системы (в частности лактобактерии), т.е. выступают в роли пребиотиков, и снижают уровень патогенной микрофлоры.

Выявленная эффективность глюкоманнанового комплекса проявлялась независимо от способа его получения.

Заключение

Полученные результаты позволяют рассматривать исследуемые компоненты клеточной стенки дрожжевых клеток для создания комплексных препаратов, способных эффективно специфически сорбировать микотоксины, с одновременной стимуляцией нормофлоры и выведением патогенных микроорганизмов из пищеварительного тракта животных.

Финансирование**Funding****Конфликт интересов****Conflict of Interest**

Не указан.

None declared.

Рецензия**Review**

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Амерханова А.М. Научно-производственная разработка новых препаратов-синбиотиков и клинико-лабораторная оценка их эффективности : дис. ...д-ра : 03.00.07 : защищена 2024-10-22 : утв. 2024-10-22 / А.М. Амерханова, К.Д. Панявина — Москва: 2024.— 49 с.
2. Берри Д. Биология дрожжей / Д. Берри — Москва: Мир, 1985. — 96 с.
3. Вагабов В.М. Биосинтез углеводных компонентов клеточной стенки дрожжей / В.М. Вагабов — Пущино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1998. — 198 с.
4. Елинов Н.П. Химия микробных полисахаридов / Н.П. Елинов — Москва: Высшая школа, 1984. — 256 с.
5. Глушанова Н.А. Биологические свойства лактобацилл / Н.А. Глушанова // Бюллетень сибирской медицины. — 2003. — № 4. — С. 50–58.
6. Моргунова Е. М. Клеточные стенки дрожжей — эффективный адсорбент микотоксинов в кормах / Е. М. Моргунова, В. Соловьев // Пищевая промышленность: наука и технологии. — 2022. — № 15. — С. 36–44.
7. Новик Г.И. Лактобациллы: биотехнологический потенциал и проблемы идентификации / Г.И. Новик, А.В. Сидоренко // Проблемы здоровья и экологии. — 2007. — № 1. — С. 141–149.
8. Егоров Н.С. Промышленная микробиология / Н.С. Егоров — Москва: Высшая школа, 1989. — 688 с.
9. Самбук Е.В. Киллер-токсины дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*: синтез, механизмы действия и практическое использование / Е.В. Самбук, Д.М. Музаев, А.М. Румянцев [и др.] // Экологическая генетика. — 2019. — № 3.
10. Ершова И.Б. Актуальные вопросы совместного применения антибактериальных препаратов и пробиотиков / И.Б. Ершова, А.А. Мочалова, Т.Ф. Осипова [и др.] // Инфектология. — 2015. — № 3.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Amerhanova A.M. Nauchno-proizvodstvennaja razrabotka novyh preparatov-sinbiotikov i kliniko-laboratornaja otsenka ih effektivnosti [Scientific and industrial development of new synbiotic drugs and clinical and laboratory evaluation of their effectiveness] : dis....of PhD in Natural sciences : 03.00.07 : defense of the thesis 2024-10-22 : approved 2024-10-22 / A.M. Amerhanova, K.D. Panjavina — Moskva: 2024.— 49 p. [in Russian]
2. Berri D. Biologija drozhzhej [Biology of yeast] / D. Berri — Moskva: Mir, 1985. — 96 p. [in Russian]
3. Vagabov V.M. Biosintez uglevodnyh komponentov kletочноj stenki drozhzhej [Biosynthesis of carbohydrate components of the yeast cell wall] / V.M. Vagabov — Puschino: ONTI NTsBI AN SSSR, 1998. — 198 p. [in Russian]
4. Elinov N.P. Himija mikrobnih polisaharidov [Chemistry of microbial polysaccharides] / N.P. Elinov — Moskva: Vysshaja shkola, 1984. — 256 p. [in Russian]
5. Glushanova N.A. Biologicheskie svojstva laktobatsill [Biological properties of lactobacilli] / N.A. Glushanova // Bulletin of Siberian Medicine. — 2003. — № 4. — P. 50–58. [in Russian]
6. Morgunova E. M. Kletochnye stenki drozhzhej — effektivnyj adsorbent mikotoksinov v kormah [Yeast cell walls are an effective adsorbent of mycotoxins in feed] / E. M. Morgunova, V. Solov'ev // Food Industry: Science and Technology. — 2022. — № 15. — P. 36–44. [in Russian]
7. Novik G.I. Latobatsilly: biotehnologicheskij potentsial i problemy identifikatsii [Latobacilli: biotechnological potential and identification problems] / G.I. Novik, A.V. Sidorenko // Health and Environmental Issues. — 2007. — № 1. — P. 141–149. [in Russian]
8. Egorov N.S. Promyshlennaja mikrobiologija [Industrial microbiology] / N.S. Egorov — Moskva: Vysshaja shkola, 1989. — 688 p. [in Russian]
9. Sambuk E.V. Killer-toksiny drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae*: sintez, mehanizmy dejstvija i prakticheskoe ispol'zovanie [Killer toxins of yeast *Saccharomyces cerevisiae*: synthesis, mechanisms of action and practical use] / E.V. Sambuk, D.M. Muzaev, A.M. Rumjantsev [et al.] // Ecological Genetics. — 2019. — № 3. [in Russian]
10. Ershova I.B. Aktual'nye voprosy sovmestnogo primenenija antibakterial'nyh preparatov i probiotikov [Current issues of combined use of antibacterial drugs and probiotics] / I.B. Ershova, A.A. Mochalova, T.F. Osipova [et al.] // Infectology. — 2015. — № 3. [in Russian]