



УДК 615.451.16:582.769

М.К. Койлыбаева¹, Г.О. Устенова¹, Д.Ж. Батырбаева², Ж.С. Алибаева², К.К. Мустафина³

Акционерлік қоғам «Ұлттық медициналық университеті»

¹Фармация мектебі, «Фармацияның ұйымдастырылуы, басқарылуы және экономикасы және клиникалық фармация» кафедрасы²Ғылыми клинико-диагностикалық зертхана,³Жалпы медицина мектебі, «Микробиология, вирусология және иммунология» кафедрасы

ПРОБИОТИГІ БАР КОЛЛАГЕНДІ МЕМБРАНАЛАРДЫҢ МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІН АНЫҚТАУ

Қазіргі таңда медицина саласында адам ағзасында биохимиялық және түрлі патологиялық үрдістерді қалпына келтіретін және патогенді микроағзаларға қарсы биологиялық белсенді заттарды бөлетін сапрофитті микрофлораны қолданудың жаңа деректері анықталуда. *Bacillus* тұқымдастығын бактериялары сан алуан түрлі және өте кең таралған микроағзалар тобына жатады, сонымен қатар әртүрлі жағдайларға жоғары бейімделуіне байланысты, топырақта, суда, ауада, тағам өнімдерінде, адам ағзасында кеңінен таралған. Осы мақсатта зерттеу жұмысының объектісі ретінде *Bacillus spp.* микроағзаларының негізіндегі коллагенді мембраналардың микробиологиялық тазалығы және микробиологиялық белсенділігі анықталды.

Түйінді сөздер: коллаген, *bacillus spp.*, микроағзалар, микробиологиялық белсенділік, микробиологиялық тазалық

Кіріспе. Заманауи медицинаның қазіргі таңдағы іргелі мақсаттарының бірі микробиологиялық белсенділігі бар жаңа дәрілік заттарды іздеу болып табылады. *Bacillus* түрінің бактериялары табиғатта кеңінен таралған және барлық жерде кездеседі - суда, ауада, топырақта және азық-түлік өнімдерінде, сонымен қатар адамның, жануардың және жәндіктердің ағзаларында. Олар бірқатар құнды қасиеттер жиынтығына ие: көптеген әр түрлі антибиотиктерді, сонымен қатар ферменттерді (трансфераза, гидролаза, липаза), амин қышқылдарын, ақуыздады, дәрумендерді, нуклеотидтерді өндіреді. Бұл түрдің өкілдері сыртқы ортаның жағдайларына жоғары бейімделгіштігімен және спора түзу қабілеттерімен сипатталады. Биопрепараттарды жасау үшін *Bacillus* түрінің бактерияларын пайдалану болашағын бағалай отырып, олар басқа экзогенді микрофлора өкілдеріне қарағанда келесі артықшылықтарымен ерекшеленеді: патогенді және шартты-патогенді бактериялардың кең спектріне қатысты айқын антагонистік белсенділігі, ағзаның көптеген жүйелерінің физиологиялық функцияларына жағымды әсер етуі; тіпті үлкен концентрацияларда макроағза үшін осы түрдің көптеген өкілдерінің зиянсыздығы; жоғары ферментативтік белсенділігі; литиялық ферменттерге тұрақтылығы және осымен негізделген асқазан-ішек жолы бойында жоғары өмір сүруге қабілеттілігі; өндірудің технологиялылығы; сақтау кезіндегі тұрақтылығы; экологиялық қауіпсіздігі.

Зерттеу жұмысының мақсаты: Құрамында пробиотигі бар коллагенді мембраналардың микробиологиялық тазалығын және микробқа қарсы белсенділігін анықтау.

Зерттеу әдістері мен мәліметтері. Зерттеу объектісі ретінде *Bacillus spp.* микроағзасы негізінде жасалған коллагенді мембраналар алынды. Микроағзалардың культуралары Мюллер - Хинтон (Hi-Media, India) ағарында өсірілді, микробиологиялық тазалығы терең, екі қабатты және беткейлік әдістер бойынша, ал микробқа қарсы әсерінің тиімділігін (белсенділігін) санды диффузия әдісімен зерттелді. Зерттеу жұмыстары Б. Атшабаров

атындағы ғылыми-клинико-диагностикалық лабораторияда жүзеге асырылды.

Зерттеу нәтижелері және талдау. Зерттеу аэробты жағдайларда өсе алатын мезофильді бактериялар мен саңырауқұлақтарға сандық зерттеулерін жүргізуге мүмкіндік береді.

Жалпы микроб санын анықтау үшін Петри табақшаларында терең әдісі, беткейлік әдісі бойынша себулер (егулер) жүргізілді. Бірінші кезеңде 85 зерттелетін сынаманың 10,0 грамын 100,0 мл физикалық ерітіндісінде ерітіп, тест үлгісін сынамаға дайындап алынды.

Терең әдісі бойынша зерттеу: зерттеу үшін дайындалған тест үлгіні 1,0 мл-ді диаметрі 90,0 мм стерильді Петри табақшасына құйып, оның үстіне ерітілген және $42,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ дейін салқындатылған қоректік ағарды 15-20 млден құйып, табақшаны біркелкі деңгейде араластырылды. Біраз уақыт болме температурасында ұстап қатырылды.

Беткейлік әдісі бойынша зерттеу: ерітіндінің температура 42,5±2,50 С дейін суытылған қоректік ағарды 15-20 мл-ден диаметрі 90,0мм, Петри табақшаларына құйылып, кептірілді. Зерттелетін тест үлгісі 0,1мл-ден тамызып шпательмен біркелкі етіп егілді, кептірілді. Барлық табақшаларды төңкеріп 300 С-тан 350 С температурадағы (200С - 250С дейін саңырауқұлақтар үшін) термостаттарға қойылды. Егулерге күнделікті бақылау жүргізілді. Колония санау 48-72 сағат (алдынала қорытынды) және 5-ші күні (қорытынды нәтижесі) жүргізілді.

Екі қабатты әдіс: Балқытылған қоректік ағарды диаметрі 90 мм стерильденген Петри табақшасына 15-20 мл мөлшерде құйылды және кептірілді. Ағар беті құрғақ болуы қажет.

Балқытылған 4 мл қоректі ортасы бар пробиркаларға ($42,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ сәйкес суытылған) 1 мл зерттелетін сынаманы құйып тез араластырып. Алдында дайындалған Петри табақшасындағы қоректік ағар үстіне құйылып, табақша араластырылып кептірілді. Зерттеу нәтижелері 1 кестеде көрсетілген.

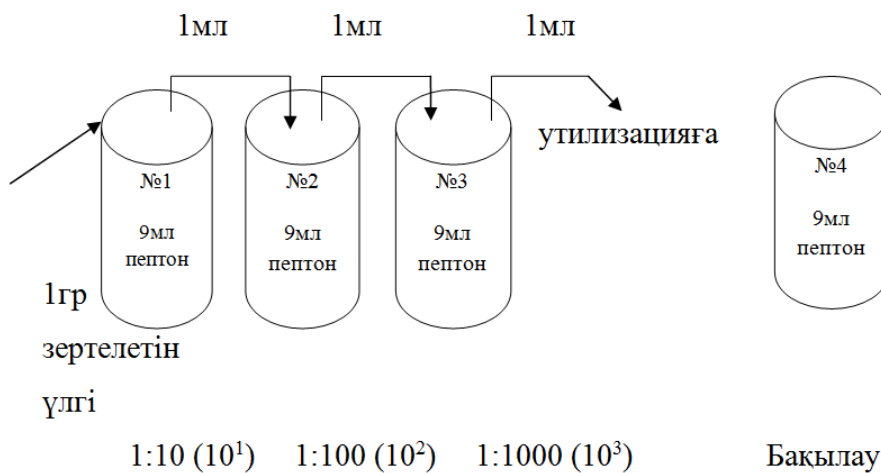
Кесте 1 - Әртүрлі егіс әдістері бойынша КТБ (КОЕ) саны

Зерттелетін үлгі	Егу әдістері		
	Терең	Беткейлік	Екіқабатты
Жалпы аэробты мезофильді бактериялар			
Пробиотигі бар коллагенді мембраналар	0	0	0
Саңырауқұлақтар			
Пробиотигі бар коллагенді мембраналар	0	0	0

Ең ықтимал сан әдісі (ЕЫС):

Зерттелетін сынама ерітінді ретінде дайындалады, өсіру суспензиясын 1:10, 1:100, 1:1000 есебінде әр қайсысы үш

пробиркадан сұйылтылады. Осылай үш сұйылту үшін тоғыз пробирка пайдаланылды.



Сурет 1

Егілген сынамаларды 30° С температурада 5 тәулік бойы инкубацияланды. Күнделікті пробиркадағы өсімдерді қадағалап отырдық, өскен өсіндіні белгілеп бақыладық. Сынақ бойынша төртінші пробиркадағы қоректі орта таза және өспеу қажет.

1,0гр дәрілік материалдан микроорганизмдердің ең ықтимал санына сәйкес келетін нәтижесі 2 кестеде көрсетілген.

Кесте 2

Дәрілік зат	Өсуі бар әрбір қатардағы пробиркалардың саны			1гр-дағы ЕБС
	Пробиркадағы препараттын саны			
	г (мл)			
	0,1	0,01	0,001	
Пробиотиігі бар коллагенді мембраналар	0	0	0	3

Зерттелетін пробиотиігі бар коллагенді мембраналардың нақты микроорганизм түрлерінің бөлінуін анықтау. Диффузия-диагностикалық қоректік орталарға егу. Термостат 370С 24-48сағатқа, Сабуро агарын 300С - 5 тәулікке қойылды. Инкубациялық кезеңнен соң өскен өсінділер қаралды. Сынама нәтижесінде зерттелген материалдарда Enterobacteriaceae (E.coli, Salmonella, Shigella және басқада шарты патогенді микроорганизмдер) тұқымдастарына жататын бактериялары, St. aureus, Candida және Ps. aeruginosa бактериялары табылған жоқ. Пробиотиігі бар коллагенді мембраналардың түрлі микробтарға қарсы белсенділігін анықтау. Коллагенді мембраналардың микробқа қарсы әсерінің тиімділігін (белсенділігін) санды диффузия әдісімен зерттелді. Диффузия әдісі-микробқа қарсы белсенділігін анықтау олардың микроорганизмдердің өсуін тежеуге қабілетіне негізделген. Анықтау тығыз қоректік ортаға ағардың диффузиясы арқылы тест культураларының өсуі тоқталған (тежелген) аймақтарының өлшемдерін салыстыру арқылы жүзеге асырылды. Коллагенді мембраналардың микробқа қарсы әсерінің тиімділігін бағалау үшін Америкалық типтік микроорганизмдер жиынтығының (ATCC) S.aureus ATCC6538, C. albicans ATCC10231 тест - культуралары қолданылды. Мембраналарды зерттеу бақылау тест-культураларымен жасанды түрде контаминациялау арқылы жүргізілді. Жасанды түрде контаминациялау үшін 28 - 37°С термостатта 18-20 сағат аралығында өсірілген тест-культураларынан суспензия дайындалды. Тест-культуралар суспензиясын дайындау: Эксперимент жасау үшін тәуліктік (18 сағ.) тест - культуралары мен 0,9% натрий хлориді

ерітіндісін пайдалана отырып, S. aureus, C. albicans культураларынан суспензия дайындап, оларды стандартты 0,5 бірлікке жеткіздік (0,5 Mc Farland). Осы стандарт 0,5 бірлікте - шартты түрде 1,0мл ерітіндіде 1,5x10⁸ бактериялық клеткаларға сәйкес келеді. Стерильді петри табақшасына 20,0 мл-дан қоректік ағары құйылды. Ағар қабатының қалыңдығы анықтаудың нәтижелеріне әсер етеді, сондықтан қоректік ортаны көрсетілген мөлшерде қатаң сақтау керек. Қоректік орталар ретінде Сабуро ортасы мен Мюллера Хинтон ортасы қолданылды. Қоректі орталардың үстіне газон әдісімен стандарты ластанған тест-культуралары егілді. Петри табақшаларды 30 минут бойы бөлме температурасында ұстап, содан кейін ағар ортасына (d = 6 мм) үнгіршек (лунка) бұрғыланды, үнгіршектері: ортасынан 25,0 мм және оның шетінен 20,0 мм болатындай бірбірінен тең қашықтықта орналасты. Үнгіршіктерді зерттелетін бактерияға қарсы экстрактпен толтырып, оларды 30 минут бөлме температурасында қалдырып, сосын табақшаларды аудармай термостатқа 28-370С температурада 24-48 сағат қойылды. Инкубациялау уақытынан кейін, микробтық өсудің тежелу аймақтарын миллиметрлік өлшеуіштермен, соның ішінде үңгіршектің диаметрі өлшенді. Тежелген аймақтардың көлеміне сәйкес антибактериалды және фунгицидтік заттардың микробқа қарсы әрекеттері бағаланады. Мұнда 15,0мм-ге дейінгі аймақ сынақ микробтың төмен сезгіштігі, 16,0- 25,0 мм - айқын, шамамен 25,0 мм-ден жоғары аймақ - жоғары сезімталдықты білдіреді. Пробиотиігі бар коллагенді мембраналардың микробқа қарсы әсерінің тиімділігін зерттеу нәтижелері 3 кестеде көрсетілген.

Кесте 3-Коллагенді мембраналардың микробқа қарсы әсер ету белсенділігі

Зерттелетін материал	Өсімнің тежелу аймағы	
		S.aureus ATCC6538
Пробиотиігі бар коллагенді мембрана	28,0 мм	29,0 мм



Қорытынды. Пробиотиғі бар коллагенді мембраналардың «Микробиологиялық тазалық» сапа индексі бойынша ҚР МФ (5.1.4.3В санатындағы) дәрі-дәрмектерге қойылатын талаптарға сәйкес келетіндігі анықталынды. Коллагенді мембраналардың антимикробтық әсерін агарға диффузия

арқылы *in vitro* жағдайында зерттелді. Алынған мәліметтерге сәйкес, зерттелген коллагенді мембраналар *S. aureus* және *S. albicans* микроағзаларына қарсы айқын белсенділікке ие екенін көрсетті.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Feresin G. E., Tapia A. A., Bustos D. A. Antibacterial activity of some medicinal plants from San Juan, Argentina // *Fitoterapia*.— 2000.— Vol. 71.— P. 429–432.
- 2 15.04.2015ж. №338 бұйрық "Ықтимал қауіпті химиялық және биологиялық заттарды пайдаланатын зертханаларға қойылатын санитариялық-эпидемиологиялық талаптар"
- 3 31.05.2017ж. №357 бұйрық "Денсаулық сақтау объектілеріне қойылатын санитариялық-эпидемиологиялық талаптар"

М.К. Койлыбаева¹, Г.О. Устенова¹, Д.Ж. Батырбаева², Ж.С. Алибаева², К.К. Мустафина³

АО «Национальный медицинский университет»

¹*Школа фармации, Кафедра организации, управления и экономики фармации и клинической фармации*

²*Научно-клиническая и диагностическая лаборатория*

³*Школа общей медицины, Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОЛЛАГЕНОВЫХ МЕМБРАН С ПРОБИОТИКАМИ

Резюме: на современном этапе в медицинской микробиологии появились новые данные, обосновывающие использование сапрофитной микрофлоры, которая способна в процессе своей жизнедеятельности вырабатывать биологически активные вещества, подавляющие рост патогенных микроорганизмов, и нормализующие различные патологические и биохимические процессы в организме человека. Высокая приспособляемость к различным условиям существования способствуют распространению бактерий в почве, воде, воздухе, пищевых продуктах и других объектах внешней среды. Таким образом целью нашего исследования являлась определение микробиологической активности коллагеновых мембран с пробиотиками.

Ключевые слова: коллаген, *Bacillus* spp., микроорганизмы, микробиологическая чистота, микробиологическая активность.

M.K. Koilybayeva¹, G.O. Ustenova¹, D. Batyrbayeva², Zh.S. Alibayeva², K.K. Mustafina³

JSC «National medical university»

¹*School of Pharmacy, department of Organization, management and economics of pharmacy and clinical pharmacy*

²*Scientific-clinical and diagnostic laboratory*

³*School of General Medicine, department of Microbiology, virology and immunology*

DETERMINATION OF THE MICROBIOLOGICAL ACTIVITY OF COLLAGEN MEMBRANES WITH PROBIOTICS

Resume: at the present stage in medical microbiology new data justifying the use of saprophyte microflora, which is able to produce during their life of biologically active substances that inhibit the growth of pathogenic microorganisms, and normalizing the various pathological and biochemical processes in the body. High adaptability to different living conditions facilitate the spread of germs in soil, water, air, food and other environmental objects. Thus, the purpose of our study was to determine the microbiological activity of collagen membranes with probiotics.

Keywords: collagen, *Bacillus* spp., microorganisms, microbiological purity, microbiological activity