

UNELE PROPRIETĂȚI UTILE ALE MICROORGANISMELOR OBLIGATIVE TRACTULUI GASTROINTESTINAL NECESARE PENTRU INCLUDEREA ÎN COMPONENTA PREPARATELOR PROBIOTICE

Ana LEORDA

Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM

Probiotics are expected to confer beneficial physiologic and immune effects to the host through stabilizing and optimizing the function of normal microflora. To include in composition of probiotics preparates, microbial strains required to possess useful properties. From a series of strains which were isolated, the strains which had a high index of adhesion and high the capacity of acumulation of the biomass bacteriene have been distinguished.

În ultimii ani, în literatura științifică, care se referă la problemele microecologiei tractului gastrointestinal al omului și al animalelor, o atenție tot mai mare se acordă îndeosebi noțiunii de *probiotice*.

Probioticele sunt microorganisme vii, care au o acțiune benefică asupra sănătății organismului și în cea mai mare măsură se realizează în tubul digestiv.

În prezent se produce o cantitate mare de preparate probiotice în baza bifidobacteriilor, lactobacteriilor, eșerihiilor, enterococilor și a altor microorganisme, care demonstrează efecte pozitive asupra reacțiilor fiziologice, biochimice și imune ale macroorganismului prin stabilizarea și optimizarea funcției florei lui normale [1,2].

Una dintre cele mai importante proprietăți ale bacteriilor probiotice este asigurarea rezistenței colonizatoare. În complexul mecanismelor rezistenței colonizatoare un rol deosebit îl are activitatea antagonistă a culturii probiotice, capacitatea ei de a adera la mucoasă. Aderând la celulele epiteliale ale intestinului, ea blochează colonizarea mucoasei de către microorganismele patogene și condițional-patogene cu participarea imunoglobulinelor, precum și a factorilor de protecție a organismului [3,4].

Rolul de adeziune îl îndeplinesc la diverse microorganisme fimbriile, antigenii de natură proteică și poli-zaharidică, acizii lipoteicoici, fosfolipidele etc. [5,6].

Procesul adeziunii permite microorganismelor de a se menține într-o anumită nișă, asigurând astfel colonizarea efectivă cu floră microbiană utilă. Deci, pentru includerea tulpinilor microbiene în componența preparatelor probiotice, de rând cu un șir de alte condiții înaintate față de ele, acestea trebuie să poseze și capacitate înaltă de aderență.

Reieșind din aceasta, scopul lucrării a fost de a selecta tulpini de microorganisme cu capacitate înaltă de adeziune, precum și de a studia posibilitățile de acumulare a biomasei de către acestea, cu utilizarea diverselor medii de cultură.

Material și metode

Indicele adeziunii a fost studiat după metoda lui Brillis (1983). Nivelul acumulării biomasei de microorganisme a fost testat prin metode bacteriologice [7].

Adezivitatea tulpinilor microbiene din genurile *Bifidobacterium* și *Lactobacillus* a fost studiată *in vitro* conform aderării lor la 25 eritrocite native. Când indicele mediu al adeziunii (IMA) este în limitele 0-1,00, microorganismul se consideră neadeziv, în limitele 1,01-2,00 – slab adeziv, iar în limitele 2,01-4,00 – mediu adeziv.

Rezultate și discuții

Testările au fost efectuate asupra a 7 tulpini de bifidobacterii și a 12 tulpini de lactobacterii. Datele obținute sunt incluse în Tabelul 1.

Analiza datelor obținute denotă că toate tulpinile microbiene testate posedă, într-o anumită măsură, activitate de aderare, însă acest indice a fost mai sporit la cele din genul *Bifidobacterium*, comparativ cu *Lactobacillus*. Cel mai înalt coeficient de adeziune s-a constatat la specia *Bifidobacterium bifidum* cu numărul de depozitare 254 și 527, *Bifidobacterium longum* cu numărul de depozitare 717 și 794. Referitor la genul *Lactobacillus*, indicele adeziunii a fost cel mai evidențiat la tulpinile speciei *L. acidophilus* cu numărul de depozitare 419 și 602.

Tabelul 1

Activitatea adezivă a tulpinilor de microorganisme obligative tractului gastrointestinal

Specia microorganismelor	Numărul tulpinii	Cantitatea celulelor microbiene aderate la 25 eritrocite	Indicele adeziuni
<i>Bifidobacterium longum var. animalis</i>	254	135,35 ± 2,75	5,41 ± 0,47
	406	127,33 ± 2,10	5,09 ± 0,76
	527	131,27 ± 3,15	5,25 ± 0,57
	677	125,66 ± 2,75	5,03 ± 0,83
<i>Bifidobacterium longum var. longum</i>	717	138,24 ± 3,27	5,53 ± 0,39
	794	132,15 ± 4,05	5,29 ± 0,80
	831	127,70 ± 2,97	5,11 ± 0,64
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	335	112,17 ± 2,45	4,49 ± 0,74
	417	119,28 ± 2,77	4,77 ± 0,59
	419	122,33 ± 3,15	4,89 ± 0,67
	504	114,29 ± 2,97	4,57 ± 0,49
	593	112,20 ± 2,08	4,49 ± 0,62
	602	121,07 ± 2,16	4,84 ± 0,60
<i>Lactobacillus plantarum</i>	137	110,25 ± 2,29	4,41 ± 0,37
	243	104,17 ± 2,43	4,17 ± 0,46
	253	109,33 ± 3,12	4,37 ± 0,54
	327	98,75 ± 1,97	3,94 ± 0,34
<i>Lactobacillus fermentum</i>	125	107,25 ± 1,87	4,29 ± 0,42
	217	96,49 ± 2,13	3,86 ± 0,29

În continuare au fost studiate particularitățile de acumulare a biomasei de bacterii obligative tractului gastrointestinal pe mediile de cultură elaborate. Mediul de cultură elaborat, destinat acumulării bifidobacteriilor, prevede substituirea bulionului de ficat de vită (mediul Blaurock) cu bragă obținută la producerea industrială a drojdiilor, iar în mediul de cultură electiv pentru cultivarea lactobacteriilor (de Man) laptele hidrolizat a fost substituit cu braga de drojdie. Aprecierea cantității de biomasă s-a efectuat în g / 100 ml mediu de cultură.

Rezultatele obținute sunt prezentate în Tabelul 2.

Tabelul 2

Nivelul cantitativ al biomasei bifidobacteriilor după inocularea pe diferite medii de cultură

Specia microorganismelor	Numărul tulpinii	Cantitatea de biomasă, g / 100 ml, conform termenului de incubare pe diferite medii, ore					
		24		48		72	
		1	2	1	2	1	2
<i>Bifidobacterium longum</i>	717	0,52±0,01	0,65±0,02*	0,98±0,04	1,47±0,02*	1,39±0,01	1,84±0,03*
<i>var. longum</i>	794	0,62±0,01	0,85±0,02*	0,17±0,03	1,65±0,04*	1,72±0,03	2,07±0,02*
<i>Bifidobacterium longum var. animalis</i>	527	0,73±0,02	0,92±0,01*	0,98±0,02	1,29±0,03*	1,75±0,02	2,19±0,04*

Legendă: 1 – mediul de cultură Blaurock;

2 – mediul de cultură elaborat.

* P<0,001 diferența statistic semnificativă cu mediul de cultură Blaurock (n = 5)

Din cele relatate rezultă că mediul de cultură elaborat contribuie la înmulțirea și acumularea mult mai rapidă a bifidobacteriilor, care peste 24 de ore de la incubare la temperatura de (37 ± 1)°C au atins nivelul numeric de 0,65 - 0,92 g/100 ml, iar pe mediul de cultură existent acesta era de numai 0,52 - 0,73 g/100 ml. Deci, nivelul cantitativ al biomasei de bifidobacterii pe primul mediu a prevalat față de cel obținut pe al

doilea cu 20,00 - 27,06%. O asemenea tendință s-a observat pe tot parcursul experienței (72 ore de incubare). În acest caz, sporirea biomasei pe mediul de cultură elaborat a constituit 20,10 - 25,00%.

În același mod s-a procedat și cu 9 tulpini de lactobacterii din genul *Lactobacillus*.

Datele nivelului cantitativ de biomasă a lactobacteriilor sunt relatate în Tabelul 3.

Tabelul 3

Nivelul cantitativ al biomasei de lactobacterii după inocularea pe diferite medii de cultură

Specia de micro-organisme	Numărul tulpinii	Cantitatea de biomasă, g /100 ml, conform termenului de incubare pe diferite medii, ore					
		24		48		72	
		1	2	1	2	1	2
<i>L. acidophilus</i>	335	0,92±0,02	1,09±0,03*	1,134±0,01	1,75±0,02*	1,69±0,03	2,16±0,02**
	417	0,89±0,01	1,04±0,02**	1,25±0,03	1,72±0,02**	1,62±0,04	1,98±0,03**
	419	0,95±0,02	1,21±0,01*	1,42±0,04	1,86±0,03*	1,75±0,03	2,24±0,02*
	504	0,84±0,02	1,17±0,02*	1,19±0,03	1,75±0,02**	1,61±0,04	2,07±0,03**
	523	0,98±0,02	1,26±0,01*	1,57±0,04	1,91±0,01*	1,84±0,04	2,32±0,02*
<i>L. plantarum</i>	243	0,78±0,02	0,97±0,01*	0,89±0,04	1,27±0,03	1,49±0,03	1,78±0,01*
	137	0,82±0,03	1,13±0,02**	0,98±0,03	1,57±0,02**	1,56±0,04	1,96±0,03**
<i>L. fermentum</i>	125	0,95±0,02	1,21±0,02*	1,29±0,03	1,68±0,02*	1,58±0,04	2,04±0,01*
	217	0,81±0,04	1,11±0,03*	1,22±0,03	1,64±0,02*	1,55±0,03	1,89±0,02*

Legendă: 1 – mediul de cultură MRS;

2 – mediul de cultură elaborat.

* P<0,001; ** P<0,01 diferența statistic semnificativă cu mediul de cultură MRS (n = 5)

Aceste date relatează că pe mediul de cultură existent (de Man sau MRS) biomasă microorganismelor din genul *Lactobacillus*, specia *acidophilus*, pe parcursul a 24 ore de incubare la temperatura de (37 ± 1)°C s-a acumulat în cantitate de 0,84 - 0,97 g/100 ml. În același timp, pe mediul de cultură modificat, acumularea biomasei acestor microorganisme a fost mai pronunțată. Despre aceasta relatează indicii cantitativi ai biomasei obținute, care erau în limitele de la 1,04 la 1,26 g/100 ml. Deci, sporirea cantității a constituit 16,85 - 39,29%. Aceeași tendință s-a observat pe parcursul a 72 ore de incubare, când biomasă de lactobacterii acumulată pe mediul de cultură existent era mai redusă față de același indice obținut pe mediul de cultură elaborat cu 21,89 - 28,57%. Microorganismele din speciile *Lactobacillus plantarum* și *Lactobacillus fermentum* de asemenea s-au acumulat în cantități mai mari comparativ cu mediul de cultură existent, respectiv cu 19,73 - 24,56 și cu 21,93 - 29,11%.

Așadar, deoarece procesul de acumulare a biomasei de bifido- și lactobacterii pe mediile de cultură elaborate a decurs mai intens, aceste medii pot fi recomandate spre utilizare la pregătirea preparatelor microbiene care conțin tulpinile bacteriene nominalizate.

În componența preparatelor probiotice se recomandă de a include tulpini microbiene care au indicii de adeziune nu mai mic de 4,00, deoarece bacteriile care posedă un nivel scăzut de adeziune vor trece tranzitoriu prin tractul gastrointestinal, astfel încât nu va fi obținut rezultatul preconizat.

Referințe:

- Collins M.D., Gibson G.R. Probiotics, prebiotics and symbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut // Am. J. Clin. Nutr. - 1999. - Vol.69. - P.1052-1057.
- Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Том 3. - Москва, 2001, с.288.
- Lee Y.K., Lim C.Y., Teng W.L. et al. Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells and their competition with enterobacteria // Appl. Envir. Microbiol. - 2000. - Vol.66(9). - P.3692-3697.
- O'Sullivan D.J. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria // J. Ag. Food Chem. - 2001. - Vol.49. - P.1751-1760.
- Greene J.D., Klaenhammer T.R. Factors involved in adherence of lactobacilli to human Caco-2 cells // Appl. Envir. Microbiol. - 1994. - Vol.60. - P.4487-4494.
- Schell M.A., Karmirantzou M., Shel B. et al. The genomic sequence of *Bifidobacterium longum* reflect its adaptation to the human gastrointestinal tract // Proc. Natl. Sci. USA. 2002. Vol. 99. - P.14422-14427.
- Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхардта. - Москва: Мир, 1983. - 536 с.

Prezentat la 27.06.2007