

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА»

На правах рукописи



**УРЯДОВА ГАЛИНА ТИМОФЕЕВНА**

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ  
МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ  
АСПЕКТЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

1.5.6. Биотехнология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук,  
профессор Карпунина Л. В.

Саратов – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
1. Обзор литературы.....	12
1.1. Свойства микробных полисахаридов.....	12
1.2. Биологическая активность молочнокислых бактерий и их экзополисахаридов в организме животных.....	18
2. Экспериментальная часть.....	29
2.1. Объекты и методы исследований.....	29
2.1.1. Определение токсичности экзополисахаридов.....	30
2.1.2. Определение антимикробной активности молочнокислых бактерий и их экзополисахаридов.....	31
2.1.3. Моделирование процесса фагоцитоза.....	32
2.1.4. Определение провоспалительных цитокинов.....	34
2.1.5. Определение живой массы, биохимических и микробиологических показателей рыб.....	34
2.1.6. Определение органолептических показателей рыбной продукции.....	35
2.1.7. Создание пленочных покрытий на основе экзополисахаридов молчнокислых бактерий.....	35
2.1.8. Определение физических свойств пленочных покрытий.....	35
2.1.9. Моделирование ожога у крыс.....	36
2.1.10. Определение микрофлоры ожогов у крыс.....	37
2.1.11. Определение форменного состава лейкоцитов крови крыс при ожогах.....	37
2.1.12. Статистическая обработка.....	37
2.2. Результаты исследований и их обсуждение.....	38
2.2.1. Оценка токсичности экзополисахаридов <i>L. lactis</i> В-1662 и <i>S. thermophilus</i> на тест-объектах <i>C. steinii</i> и кроликах.....	38
2.2.2. Влияние <i>L. lactis</i> В-1662 и <i>S. thermophilus</i> и их	

экзополисахаридов на микроорганизмы .....	40
2.2.3. Влияние экзополисахаридов <i>L. lactis</i> В-1662 и <i>S. thermophilus</i> на процесс фагоцитоза макрофагами мышей.....	45
2.2.4. Влияние экзополисахаридов <i>L. lactis</i> В-1662 и <i>S. thermophilus</i> на цитокиновый статус мышей при моделировании стафилококковой инфекции.....	49
2.2.5. Влияние экзополисахаридов <i>S. thermophilus</i> в составе кормов на физиологические показатели рыб.....	52
2.2.6. Влияние экзополисахаридов <i>S. thermophilus</i> на органолептические показатели рыбы.....	56
2.2.7. Создание и характеристика пленочных покрытий, созданных на основе экзополисахаридов <i>L. lactis</i> В-1662 и <i>S. thermophilus</i> .....	59
2.2.8. Влияние пленочных покрытий, созданных на основе экзополисахаридов <i>L. lactis</i> В-1662 и <i>S. thermophilus</i> , на заживление ожогов у крыс.....	62
2.2.9. Влияние экзополисахаридов молочнокислых бактерий и пленочных покрытий, созданных на их основе, на микрофлору ожогов у крыс.....	70
2.2.10. Влияние экзополисахаридов <i>L. lactis</i> В-1662 и <i>S. thermophilus</i> и пленочных покрытий, созданных на их основе, на состав лейкоцитов крови крыс при моделировании ожогов.....	74
Заключение.....	81
Выводы.....	88
Список сокращений и условных обозначений.....	90
Список литературы.....	91
Приложения.....	119

## Введение

**Актуальность темы.** В последние годы внимание исследователей все больше привлекают полисахариды (ПС) микробного происхождения, а среди них экзополисахариды (ЭПС) бактерий, в связи с возможностью их применения в пищевой промышленности, фармацевтике, медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве [13, 36, 128, 139, 198, 203, 215]. Преимущества таких ЭПС в их сезонной независимости, простоте и экономичности производства, регулировании свойств и условий их получения [45]. В естественной среде обитания ЭПС бактерий обеспечивают защиту клеток от токсических воздействий окружающей среды, формируют биопленки, способствуют поглощению катионов, определяют антигенные свойства клетки [131, 144]. Известно также, что ЭПС бактерий обладают антимикробными, иммуномодулирующими, ранозаживляющими свойствами [53, 61, 80]. Среди бактериальных полисахаридов значительное внимание уделяется ЭПС молочнокислых бактерий, обладающих международными статусами безопасности GRAS (Generally Recognized As Safe – общепризнанные в качестве безопасных) [146] и QPS (Qualified Presumption of Safety – имеющие квалифицированную презумпцию безопасности) [122] и являющихся пробиотическими культурами. Имеются сведения в литературе о биологических свойствах и применении ЭПС молочнокислых бактерий [25, 33, 80, 116, 129-132, 154, 163, 186, 193, 197, 201, 202, 204, 210, 211, 215, 224 и др.], однако, в основном, эти работы посвящены ЭПС лактобацилл и бифидобактерий.

**Степень разработанности темы исследования.** Из литературы известно, что в состав нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), помимо основных представителей молочнокислых бактерий – бифидобактерий и лактобактерий [87, 116, 129], входят лактококки [42, 51, 124, 138, 182] и стрептококки, составляющие малочисленную группу [51,

169], но обладающие значимой биологической активностью. Имеются немногочисленные публикации относительно влияния ЭПС *Lactococcus lactis* и *Streptococcus thermophilus* на продукцию некоторых цитокинов макрофагами, скорость фагоцитоза, подавление роста опухолевых клеток у мышей [165, 176, 199]. Однако эти работы не раскрывают в полной мере выполняемую ими роль в живом организме. Для обоснования применения экзополисахаридов молочнокислых кокков в медико-биологической практике, ветеринарии и других отраслях сельского хозяйства необходимы более обширные знания об их биологической активности. Поэтому исследования в этой области являются актуальными и имеют научное и практическое значение.

**Цель работы** состояла в изучении биологической активности и биотехнологических аспектов использования экзополисахаридов молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* В-1662 и *Streptococcus thermophilus*.

В соответствии с целью были поставлены следующие **задачи**:

1. Оценить общую токсичность экзополисахаридов *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на биотест-объектах *Colpoda steinii* и белых новозеландских кроликах.

2. Изучить антимикробную активность *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и их ЭПС в отношении некоторых представителей условно-патогенной микрофлоры (*Escherichia coli* 113-13 и АТСС 25922, *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 27853 и АТ-31, *Staphylococcus aureus* 209-Р, *Klebsiella pneumoniae* К2, *Bacillus subtilis* 262, *Candida albicans* 223 и 13108).

3. Выявить влияние экзополисахарида *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на факторы естественной резистентности организма белых мышей: фагоцитарную активность макрофагов и продукцию провоспалительных цитокинов в процессе фагоцитоза *S. aureus* 209-Р.

4. Изучить влияние экзополисахарида *S. thermophilus* на организм (живую массу, биохимические и микробиологические показатели) ленского осетра (*Acipenser baerii stenorrhynchus Nikolsky*) при добавлении в корм, а также на органолептические показатели (вкуса и консистенции) рыбы.

5. Создать пленочные покрытия на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*, изучить их некоторые физические свойства (прочность, растяжимость, толщина, вязкость) и оценить их влияние на заживление ожогов у крыс.

6. Определить степень воздействия растворов ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочных покрытий, созданных на их основе, на микрофлору ожогов и состав лейкоцитов крови при применении их в заживлении ожогов у крыс.

**Научная новизна.** Проведено исследование биологической активности экзополисахаридов молочнокислых бактерий *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*. На биотест-объектах *C. steinii* и белых новозеландских кроликах (кожная проба) показано отсутствие их токсичности в концентрации 0,06 г/л. Установлена способность данных полисахаридов *in vitro* подавлять рост *E. coli* 113-13 и АТСС 25922, *P. aeruginosa* АТСС 27853 и АТ-31, *S. aureus* 209-Р, а также ЭПС лактококка подавлять рост еще и *B. subtilis* 262, ЭПС стрептококка – *K. pneumoniae* К2. Изучаемые ЭПС способны стимулировать фагоцитарную активность макрофагов мышей и продукцию провоспалительного цитокина – интерлейкина-1 $\alpha$  (ИЛ-1 $\alpha$ ), но не влияют на синтез фактора некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ). Обнаружено, что добавление экзополисахарида *S. thermophilus* в корм ленского осетра способствует увеличению его массы и количества молочнокислых бактерий в кишечнике, не оказывая негативного влияния на биохимические показатели крови рыб. Созданы пленочные покрытия на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и определены их некоторые физические свойства (прочность, растяжимость, толщина, вязкость). Впервые выявлена способность

пленочных покрытий, созданных на основе ЭПС, ускорять заживление ожоговых ранений у крыс, с подавлением роста бактерий группы кишечной палочки и стафилококков, способствуя нормальному (не патологическому) течению данного процесса без осложнений.

**Теоретическое и практическое значение работы.** Полученные результаты расширяют представление о роли экзополисахаридов молочнокислых бактерий в живом организме и вносят существенный вклад в фундаментальные исследования экзополисахаридов микроорганизмов. Выявленная способность нетоксичных экзополисахаридов *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* подавлять рост некоторой условно-патогенной микрофлоры, регулировать активность факторов естественной резистентности, ускорять заживление ожоговых ранений, увеличивать ихтиомассу ленского осетра, благотворно влияя на формирование кишечной микробиоты, улучшая органолептические показатели мяса рыбы. Это открывает перспективы их использования в экспериментальной биологии, медицинской, фармацевтической промышленности, сельском хозяйстве.

По материалам диссертационной работы опубликованы методические рекомендации: «Изучение влияния условий культивирования молочнокислых бактерий на их способность образовывать биопленки» (в соавторстве с А.Ю. Тяпкиным, Л.В. Карпуниной, Н.А. Фокиной, 2018), рекомендованные на заседании кафедры «Микробиология, биотехнология и химия» Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова (протокол №16 от 28.04.2018 г.); «Изучение влияния экзополисахаридов молочнокислых бактерий и пленочных покрытий, созданных на их основе, на заживление ожоговых ранений у лабораторных животных» (в соавторстве с Н.А. Фокиной, Л.В. Карпуниной, 2020), рекомендованные на заседании кафедры «Микробиология, биотехнология и химия» Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова (протокол №8 от 04.02.2020 г.); «Определение биологической активности бактериальных экзополисахаридов

в организме лабораторных животных *in vitro* и *in vivo*» (в соавторстве с Н.А. Фокиной, С.В. Савиной, Л.В. Карпуниной, 2020), рекомендованные на заседании кафедры «Микробиология, биотехнология и химия» Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова (протокол №8 от 04.02.2020 г.) для студентов старших курсов, магистрантов, аспирантов, специалистов микробиологических, иммунологических и ветеринарных лабораторий. Предложенная технология выращивания рыб при кормлении их ЭПС *S. thermophilus* рекомендована к использованию в ООО «Рыбный дом» (акт о внедрении результатов №5 от 11.04.2022 г.) и ООО «Тёпловский рыбопитомник» (акт о внедрении результатов от 14.04.2022). Результаты диссертации используются в учебном процессе при чтении лекций по микробиологии, биотехнологии, проведении лабораторно-практических занятий и написании дипломных работ в ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

**Методология и методы исследования.** Методологической базой послужили труды отечественных и зарубежных исследователей по вопросам получения экзополисахаридов молочнокислых бактерий и изучению их биологических свойств. Основу данного исследования составляют комплексный анализ и системный подход в изучении рассматриваемой темы. При проведении исследования и изложения материала были применены общенаучные методы: теоретико-методологический анализ литературных источников, эмпирические методы исследования в форме наблюдения, описания, измерения и сравнительно-сопоставительного анализа. Применение указанных методов, а также анализ фактического материала позволил обеспечить объективность полученных результатов и выводов.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Экзопполисахариды *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* не являются токсичными в концентрации 0,06 г/л для биотест-объектов *C. steinii* и белых новозеландских кроликов.

2. Культуры *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и их ЭПС проявляют антимикробную активность в отношении некоторой условно-патогенной микрофлоры, при этом ЭПС оказывали более выраженное воздействие. Наибольшую подавляющую способность проявил ЭПС *S. thermophilus*.

3. Экзополисахариды *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* в концентрации 0,06 г/л оказывают стимулирующее влияние на фагоцитарную активность альвеолярными (АМФ) и перитонеальными (ПМФ) макрофагами белых мышей в процессе фагоцитоза *S. aureus* 209-Р, продукцию цитокина ИЛ-1 $\alpha$ , но не оказывали влияния на продукцию ФНО- $\alpha$ .

4. Экзополисахарид *S. thermophilus* при добавлении в корм способствует увеличению ихтиомассы и количества молочнокислых бактерий в кишечнике ленского осетра, не оказывая негативного влияния на биохимические показатели крови, улучшает органолептические показатели мяса рыбы, а также способствует уменьшению затрат кормов.

5. Созданы пленочные покрытия на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и изучены их некоторые физические и ранозаживляющие свойства. Пленочные покрытия способствуют более быстрому заживлению ожоговых ранений у крыс, в большей степени – пленочное покрытие, созданное на основе ЭПС *S. thermophilus*.

6. Экзополисахариды ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* в виде раствора и пленочных покрытий, созданных на их основе, в равной степени способствуют значительному уменьшению числа бактерий группы кишечной палочки и стафилококков в ожогах у крыс и нормальному (не патологическому), течению процесса заживления без осложнений.

**Работа выполнена** на кафедре микробиологии, биотехнологии и химии факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

**Степень достоверности и апробация работы.** Степень достоверности результатов обеспечена использованием стандартных микробиологических, биотехнологических, биохимических и физиологических методов исследований и методов статистической обработки данных.

Основные материалы диссертационной работы были представлены на: конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы 2013-2021 гг. (Саратов, 2014 – 2021); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий» (Саратов, 2015); Международной конференции молодых ученых «Иностранный язык как средство научной коммуникации» (Саратов, 2015); Всероссийском конкурсе научно-технического творчества молодежи «НТТМ-2015» (Москва, 2015); III Ежегодной Международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика» (Ялта, 2015); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий» (Саратов, 2016); VIII Всероссийской конференции молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой» (Саратов, 2016); Международной научно-практической конференции «Инновации в пищевой технологии, биотехнологии и химии» (Саратов, 2017); 1-м Российском Микробиологическом Конгрессе (Пушино, 2017); IV Пущинской школе-конференции «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов» (Пушино, 2017); 22-ой Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2018); 23-ей Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2019); IX Всероссийской конференции молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой» (Саратов, 2019); Всероссийской конференции с международным участием «Микробиология:

вопросы экологии, физиологии, биотехнологии» (Москва, 2019); 24-ой Международной школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2020); Национальной научно-практической конференции «Зыкинские чтения» (Саратов, 2020, 2022), Международной научной конференции PLAMIC 2020 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» (Саратов, 2020), III Всероссийской (национальной) научно-практической конференции «АПК России: образование, наука, производство» (Саратов, 2021).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 24 работы, в том числе 5 статей из перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

**Личный вклад соискателя** состоит в подготовке и проведении экспериментальных исследований на всех этапах диссертационной работы, интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций, участии в конференциях.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, двух глав: обзора литературы и экспериментальной части, включающей объект, материалы и методы исследований, результаты исследований и их обсуждение, а также заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа изложена на 121 страницах, содержит 24 таблицы, 5 рисунков. Список литературы включает 225 наименований, в том числе 118 отечественных, 107 зарубежных.

## 1. Обзор литературы

### 1.1. Свойства микробных полисахаридов

В последние годы полисахариды микроорганизмов в связи с их большой функциональной значимостью в организме животных и человека, находят все большее применение в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве [13, 198, 214]. На мировом рынке потребность в микробных, а среди них – бактериальных, полисахаридах постоянно растет.

Известно, что микробные полисахариды участвуют в формировании иммунитета: активируют защитные силы организма, повышая его устойчивость к инфекциям [35, 36, 157].

Среди полисахаридов, обладающих широким спектром биологических свойств, известны: зимозан [5, 8, 34, 37], сальмозан [9, 20, 85, 86], пирогенал [10, 43, 49, 92] и продигиозан [32, 56, 81] и другие.

Зимозан – биополимер, выделенный из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, состоящий большей частью из гликанов. Он повышает противоопухолевую и антиинфекционную резистентность организма, активизируя образование Т- и В- лимфоцитов, стимулирует лейкопоз, увеличивает активность макрофагов и лейкоцитов, способствует увеличению числа и активности лимфоцитов, увеличивает канцеролитическую и комплементарную активность сыворотки крови, повышает уровень пропердина. Зимозан применяют в лечении онкологических заболеваний, так как этот биополимер обладает комплексным воздействием на организм. В то же время он угнетает рост индуцированных и трансплантированных опухолей, подавляет процесс метастазирования, усиливает эффективность и ослабляет токсичность цитостатических антибластомных препаратов, тем самым способен увеличивать продолжительность жизни человека [9].

Известно, что такие микробные полисахариды как  $\beta$ -1,3-О-глюканы активизируют иммунную систему гуморальными и клеточными факторами.

Так, при воздействии на гуморальные факторы иммунитета повышается уровень интерлейкинов 1 и 2, иммуноглобулинов (IgM и IgG), активатора плазминогена, интерферона,  $H_2O_2$ , колониестимулирующего фактора, опсонинов, фактора некроза опухоли, белков плазмы, включая белки острой фазы (комплемента С3, гомопексина, церулоплазмينا и т.д.); увеличивается включение глюкозамина (до 10 раз), происходит ингибирование простагландинов и иммуносупрессивных веществ, возрастает потребление глюкозы клетками [36, 150, 157]. Поэтому глюканы используются как в профилактических целях, так и в качестве вспомогательных лекарственных средств при различных заболеваниях, сопровождающихся общим снижением иммунитета [118]. Структура, состав, молекулярная масса, растворимость в воде играют роль при взаимодействии с элементами иммунной системы [9, 34, 136, 143, 168]. Так, полисахарид *Alcaligenes faecalis var myxogenes* 10СЗ – курдлан, являясь линейным 1→3-β-D-глюканом, стимулирует цитотоксичность полиморфноядерных лейкоцитов *in vitro*. В то же время лентинан (полисахарид гриба шиитакэ – *Lentinula edodes*) и шизофиллан (полисахарид ксилотрофного гриба *Schizophyllum commune*), являющиеся также 1→3-β-D-глюканами, не обладают таким действием, поскольку имеют наряду с β-1→3 связями β-1→6 связанные остатки глюкозы в виде боковых цепей. Биологическая активность β-D-глюканов также связана с оптимальным содержанием (около 30%) β-1→6-связанных остатков глюкозы в молекулах β-D-глюканов. Наличие β-1→6-связей определяет пространственную структуру β-D-глюканов, от которой зависит проявление биологического действия полисахаридов [9]. Под влиянием этих ПС на клеточные факторы иммунитета происходит усиление фагоцитоза, рост цитотоксичности макрофагов, возрастание числа антителообразующих клеток, пролиферация, ингибирование миграции макрофагов, реакция гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ), активация Т-хелперов, Т-киллеров, нормальных киллеров (NK), реакция «трансплантат против

хозяина» (РТПХ), увеличение лимфоузлов и других кроветворных органов, стимуляция экзо- или эндогенного колониобразования в селезенке или костном мозге, митостатическое действие [9]. Такие глюканы, как крестин (полисахарид гриба-трутовика *Trametes versicolor*), лентинан, шизофиллан и полисахарид *Ganoderma lucidum* – трутовика лакированного, известны как противоопухолевые и иммуномодулирующие полисахариды [18, 38, 135, 184, 219].

В ветеринарной медицине широко применяется сальмозан [20], который представляет собой очищенный полисахарид из соматического О-антигена сальмонелл. Полисахарид малотоксичен, не содержит примесей белков и липидов. Сальмозан стимулирует образование антител, фагоцитарную активность лейкоцитов и макрофагов, повышает уровень лизоцима в крови, стимулирует неспецифическую резистентность к инфекциям, вызванными такими бактериями как сальмонеллы, листерии, клебсиеллы, эшерихии, стафилококки, бруцеллы, риккетсии, возбудители туляремии, а также стимулирует пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток. По итогу клинических испытаний было установлено, что дополнительное введение сальмозана к схеме комплексной терапии инфекционных заболеваний мелких домашних животных позволяет предотвратить развитие вторичных инфекций, существенно ускорить сроки выздоровления, повысить терапевтическую эффективность антибиотиков и сократить курсы антибиотикотерапии [20]. Также было исследовано влияние сальмозана на организм при вирусных заболеваниях в качестве иммуномодулятора и на кроветворную систему [85, 86].

Подобное стимулирующее действие на иммунитет оказывают полисахариды с липидным компонентом – пирогенал и продигиозан. Пирогенал – полисахарид *Pseudomonas aeruginosa*, использующийся для стимулирования восстановительных процессов после повреждений и заболеваний центральной и периферической нервной системы, для

рассасывания патологических рубцов, спаек после ожогов, травм, при спаечном процессе в брюшной полости, в комплексной терапии больных инфекционными заболеваниями. При введении пирогенала характерны: лейкопения (снижение уровня лейкоцитов в крови), сменяющаяся лейкоцитозом (увеличением числа лейкоцитов в крови), увеличение проницаемости тканей, в том числе гематоэнцефалического барьера (барьера между кровью и тканью мозга), подавление развития рубцовой ткани, улучшение восстановительных процессов в нервной ткани, способствует лучшему проникновению химиотерапевтических веществ в очаг поражения [10, 11, 43, 49, 92, 109, 117]. Пирогенал способствует сокращению сроков лечения инфекционных болезней [64].

Продигиозан – полисахарид *Serratia marcescens* (старое название *Bacterium prodigiosum*), способный повышать устойчивость к инфекционным агентам, стимулируя фагоцитарную активность макрофагов соединительной ткани и крови [19, 32, 56, 81]. Также известно, что прогидиозан при введении мышам повышает их резистентность к сепсису, вызванному золотистым стафилококком. Отмечены: изменение активности макрофагов – увеличение фагоцитарного индекса лейкоцитов в отношении золотистого стафилококка, синегнойной палочки и вульгарного протей при парентеральном введении этого полисахарида больным; нормализация белкового состава крови. Благоприятное влияние на кроветворную функцию продигиозана используется для облегчения проявлений тяжелой лучевой интоксикации, лучевых поражений кожи, угнетения гемопоэза, при тяжелых лейкопениях [35]. При изучении изменений неспецифической резистентности была определена способность липополисахаридов уже через 24 часа после введения повышать общую бактерицидность крови, комплиментарную активность в целом и фракционно, а также стимулировать пропердиновую систему. При введении полисахаридов наблюдается кратковременная лейкопения (снижение уровня лейкоцитов в крови),

сменяющаяся длительным и стойким лейкоцитозом (увеличением числа лейкоцитов в крови), увеличением числа нейтрофилов, в том числе за счет молодых форм, а также усиление фагоцитарной активности микро- и макрофагов. Авторами было высказано предположение о том, что ПС являются естественными регуляторами фагоцитарной защиты организма, поскольку обнаруживалось усиление поглотительной и переваривающей способности. Это было известно еще с 60-х годов XX века для прогидиозана, глюкана на примере мышей и морских свинок из работ З.В. Ермольевой [35], Г.Е. Вайсберг [36], Л.Н. Жуковской [35]. При вирусных патологиях ПС с липидным компонентом способны стимулировать образование интерферона, а также способны стимулировать через макрофаги Т-лимфоциты (Т-хелперы и Т-супрессоры) и вследствие этого по степени реакции В-лимфоцитов – активность антителогенеза. В результате стимуляции В-лимфоциты вызывают усиление первичного и вторичного иммунного ответа (IgM, IgG). Работами Р. Штайнмана [207, 208, 216], Б. Бойтлера [176] и Ж. Хоффмана [167] подтверждена способность ПС с липидным компонентом активизировать специальные рецепторы дендритных клеток, активирующие Т-лимфоциты, отвечающие за врожденный иммунитет, за что в 2011 году эти авторы получили Нобелевскую премию.

Известно, что полисахариды с липидным компонентом таких бактерий как *Azospirillum irakense* KBC1, *A. lipoferum* Sp59b, *A. brasilense* Sp245, Sp245.5 и S17 *in vitro* стимулируют процесс фагоцитоза бактерий макрофагами и способствуют его завершённости, умеренно индуцируют продукцию ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  [95].

Иммуномодулирующими свойствами обладают ЭПС таких бактерий как: *Paenibacillus jamilae* CP-7 [200], *Bacillus* spp. [150], *B. licheniformis* [121], *B. amyloliquefaciens* sp. [134]. ЭПС *P. jamilae* CP-7 при введении мышам, обладая низким уровнем острой токсичности, активизировал пролиферацию спленоцитов *in vitro* и синтез цитокинов, а также приводил к подавлению

пролиферативных и цитокиновых ответов при его воздействии на Т- и В-клетки, которые были стимулированы общепринятыми митогенами [200].

Ряд ЭПС бактерий рода *Bacillus* обладают антивирусным и противоопухолевым действием, при этом они оказывают профилактическое воздействие при стафилококковой инфекции, усиливают действие лекарственных препаратов [7, 76, 83]. Экзополисахариды *P. polymyxa* JB115 рекомендованы в качестве пищевой добавки для активизации иммунитета у животных [158].

Бактериальные полисахариды влияют на антителиогенез, стимулируя синтез иммуноглобулинов, усиливая пролиферацию иммунокомпетентных клеток и изменяя проницаемость сосудов [36]. Исследование ПС показало их активность как препаратов в регуляции иммунного ответа, перспективность и патогенетическую оправданность их использования, так как в сущности своей подтвердило естественный механизм формирования защиты [109]. Получение новых, малотоксичных полисахаридов позволит расширить арсенал естественных иммунорегуляторов и раскрыть механизмы саморегуляции иммуногенеза [11].

Имеются сведения, что ЭПС бактериального происхождения способствуют заживлению ран: (1→3)-β-D-глюкан [166], при обработке ран которым было показано большее количество макрофагов на ранней воспалительной стадии заживления с меньшим количеством полиморфноядерных нейтрофильных лейкоцитов, чем в контрольных ранах. Для лечения ожогов, хронических язвенных заболеваний кожи на матрице бактериальной целлюлозы (полисахарид бактерии *Acetobacter xylinum*) разработан препарат «BioFill» [209]. На сегодняшний день для создания раневых покрытий («Альгипор», «Колетекс», «Биокол» и т.д.) в медицине наряду с полисахаридами растительного [65, 175, 225] и животного [69] происхождения используются и полисахариды грибов (*Aureobasidium pullulans*) [67]. Присутствие на ране полисахаридных материалов

благоприятно сказывается на репарационных процессах на всех стадиях лечения раны. Но основной проблемой получения покрытий из природных полисахаридов является достижение хорошей механической прочности покрытия и устойчивости на ране.

Пленочные покрытия на основе полисахаридов микробного происхождения – ксантана, геллановой камеди, хитозана – находят применение в сельском хозяйстве, пищевой и перерабатывающей промышленности для сохранения овощей, фруктов, мяса, хлебобулочных изделий и т.д. [72, 73, 74, 161]. Имеется информация о пленочных покрытиях, созданных на основе ЭПС молочнокислых бактерий – *Lactobacillus delbrueckii*, обладающие антимикробными и ранозаживляющими свойствами [80]. Сведений о создании пленочных покрытий с использованием ЭПС молочнокислых кокков в доступной литературе не обнаружено.

Бактериальные полисахариды также находят применение в сельском хозяйстве для кормления некоторых животных, но такие сведения немногочисленны [17, 106], однако лидирующую позицию в этом занимают пробиотические комплексы на основе бактерий *p. Bacillus* [71, 115].

## **1.2. Биологическая активность молочнокислых бактерий и их экзополисахаридов в организме животных**

Благоприятное воздействие на организм животных молочнокислых бактерий известно с глубокой древности. Молочнокислые бактерии, обладающие международными статусами безопасности GRAS и QPS, составляя нормальную микробиоту организма, как известно, играют значительную роль в животном организме, регулируя его жизнедеятельность за счет ряда важных биологически активных веществ, в том числе и ЭПС [171, 183, 186], роль которых в настоящее время не до конца изучена.

Согласно литературным данным, молочнокислые бактерии [65, 96-100, 137, 147, 196] способны подавлять рост патогенных и условно-патогенных

микроорганизмов. Молочнокислые бактерии обладают различной биологической активностью, например, антимикробной активностью, которая определяется наличием различных веществ. Так, бактерицидные свойства *Lactobacillus acidophilus* обусловлены наличием специфических антибиотических веществ, действие которых усиливает совместное присутствие молочной, уксусной и пропионовой кислот [137], *Lactococcus lactis* ВКПМ-В-7699, согласно данным [65], – продуцированием бактерицина (низина). Также известен штамм *L. lactis* К-205, выделенный из лечебно-профилактического бурятского напитка курунги, который обладает широким спектром бактерицидного и фунгицидного действия за счет продуцирования низина, что является редким свойством лактококков [88]. А подавление роста *Salmonella enterica serovar enteritidis* молочнокислой бактерией *Lactobacillus kefir* достигается за счет большого содержания белков S-слоя [147]. В работе S. Resta-Lenert и К. Е. Barrett [196] было показано, что *L. acidophilus* и *L. rhamnosus* GG обладают антитоксическим и антимикробным эффектом в отношении *Clostridium difficile* и *E. coli*, а *S. thermophilus* и *L. plantarum* в отношении *E. coli* за счет продуцирования молочной кислоты.

Имеются сведения о противоопухолевом эффекте *L. acidophilus* в отношении мышей, зараженных внутрибрюшинно клетками асцита [153]; антагонистическом действии на холерные вибрионы [37]. Также эта культура наиболее эффективна в борьбе с условно-патогенными микробами и возбудителями острых кишечных инфекций. Штамм *L. acidophilus* Ер317/402 «Наринэ» обладает иммуностимулирующим свойством: стимулирует выработку в организме  $\alpha$ -,  $\beta$ - и, особенно,  $\gamma$ -интерферона [6]. Штамм *L. acidophilus* LA-5 используется в БАДе «Бифиформ Комплекс». В состав лекарства «Линекс» входят *L. acidophilus* sp. и *L. gasseri*. Беззародышевый водный субстрат продуктов обмена веществ *L. acidophilus* входит в состав противодиарейного лекарственного препарата «Хилак форте». В состав

препарата «Лактобактерин сухой» входят *Lactobacterinum siccum*. Применение подобных пробиотиков не только способствует увеличению доли молочнокислых бактерий в микрофлоре кишечника, но способствует увеличению содержания общего белка крови, качественно улучшает белковый состав крови [59, 193].

Молочнокислые бактерии участвуют в формировании нормального защитного иммунитета, нарушение которого обуславливает развитие аллергических реакций у человека [52]. Экспериментальные данные показали, что микробиота кишечника участвует также в поддержании контроля массы тела и энергетическом обмене, способствует развитию резистентности к инсулину, формированию хронического воспаления, характерного для ожирения [179].

Кишечник живого организма заселяют различные микроорганизмы, заключенные в экзополисахаридно-муциновый комплекс – биопленку [84]. Кишечная микробиота, иммобилизованная в составе биопленок, является сложной метаболической системой симбионтного строения, выполняющая взаимопользные функции, способная активировать реакции врожденного иммунитета [112]: микробиота постоянно взаимодействует с рецепторами клеток врожденного иммунитета [194, 195]. В состав нормальной микробиоты желудочно-кишечного тракта входят: бифидобактерии (59,15%), лактобактерии (16,89%), энтерококки (12,39%), энтеробактерии (11,55%), прочие бактерии (0,02%), в том числе и лактококки [31]. Молочнокислые бациллы в сочетании с бифидобактериями являются основой микробиоты кишечника [33, 116]. В толстом кишечнике животных наиболее часто встречаются 14 видов этих бактерий, среди них преобладают: *L. brevis* (28%), *L. plantarum* (19%), *L. acidophilus* (12%), *L. celobiosus* (9,5%), *L. casei* (9,5%) [3, 33, 159]. Лактококки выделяются с поверхности вымени коров, сена, силоса, внутренней поверхности коровников [42]. Y. Nami с соавт. [182] выделили лактококки из вагинальной микрофлоры.

Лактобактерии и бифидобактерии, контактируя с энтероцитами, стимулируют механизмы защиты организма человека и животных, в том числе увеличение скорости регенерации слизистой оболочки, влияют на синтез антител, активируют фагоцитоз, а также синтез лизоцима, интерферонов и цитокинов. Противоопухолевую активность лактобацилл связывают со способностью ингибировать образование канцерогенов; инактивировать фекальные бактериальные энзимы, конвертирующие проканцерогены,  $\beta$ -гиалуронидазы, азоредуктазы, нитроредуктазы,  $\beta$ -глюкозидазы,  $\beta$ -глюкуронидазы [61]; продуцировать гликопептиды, ферменты, бактериоцины, которые повышают функциональную активность мононуклеарных фагоцитов и стимулируют иммунную систему макроорганизма; активностью полисахаридов клеточной стенки и выделяемыми во внешнюю среду полисахаридами [61, 144, 189].

Иммуномодулирующая функция молочнокислых бактерий как составного компонента микробиоты [52] заключается в запуске и последующей активации синтеза неспецифических гуморальных факторов защиты (лизоцим, пропердин, комплемент) и клеточных (фагоцитоз) [142].

Антимутагенная и антиканцерогенная функция выявлена у пробиотических штаммов, составляющие микробиоту живого организма [58]: противоопухолевая активность выявлена у *L. acidophilus* и *L. casei* [61]. Антиканцерогенное действие лактобацилл основано на механизмах инактивации проканцерогенов, содержащихся в пище, угнетения активности ферментов, продуцирующих мутагены, стимуляции иммунных процессов противоопухолевой защиты, продукции соединений, способных ингибировать пролиферацию опухолевых клеток. Под влиянием пробиотиков наблюдается снижение в фекалиях промоторов опухолевого роста, таких как свободные амины, азоредуктазы, нитроредуктазы и другие.

Молочнокислые бактерии способны защищать от аллергии: так, *L. lactis* G121, полученные с разных поверхностей коровника, оказывали

положительное влияние на регуляторные Т-клетки [213], но механизм не был раскрыт. В исследовании А. Oksaharju [187] показано, что пробиотические бактерии – *L. rhamnosus* GG и *L. rhamnosus* Lc705 – имеют видоспецифическое действие на экспрессию генов тучных клеток человека, уменьшая их активацию и, таким образом, оказывают влияние на неспецифическое воспаление через активацию врожденного иммунитета, тем самым предотвращая симптомы аллергических реакций и сдвигая иммунный ответ в сторону Th1 типа [172]. Было показано, что пробиотические бактерии *in vitro* индуцируют экспрессию и секрецию Th1 цитокинов в моноцитах, макрофагах и дендритных клетках [216]. Тучные клетки, стимулированные *L. rhamnosus* GG и *L. rhamnosus* Lc705, *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* Bb12 также индуцируют экспрессию гена, который кодирует противовоспалительный IL-10. Секреция IL-10 тучными клетками ограничивала хроническое воспаление в коже при аллергических реакциях [149]. Показано, что пробиотические штаммы *Bifidobacterium* стимулируют производство IL-10 в иммунных клетках. Индукция IL-10 в тучных клетках может участвовать в балансировке воспалительных процессов. Hui-Ching Mei с соавт. [177] выделили 96 штаммов из традиционных Тайваньских продуктов брожения и оценили их способность *in vitro* влиять на продукцию цитокинов периферическими мононуклеарами человека для выявления иммунологически активных штаммов. Микроорганизм *L. lactis* A17 с повышенной IFN- $\gamma$  продукцией является штаммом-кандидатом, перспективным в качестве противоаллергического препарата. Лактококки увеличивали производство Th1 цитокинов IL-12 и IFN- $\gamma$  и уменьшали продукцию Th2 цитокинов IL-4 и IL-5. Другим противоаллергическим штаммом-кандидатом является *L. paracasei* штамм KW3110, ингибирующий продукцию Th2 цитокинов IL-4, IL-5, IL-13 [156]. Иммуногенность молочнокислых бактерий обусловлена выживаемостью этих бактерий в желудочно-кишечном тракте, т.к. они способны выживать в кислой среде и

прикрепляться к поверхности слизистой оболочки, а с другой стороны, было показано, что и убитые молочнокислые бактерии обладают иммуномодулирующим эффектом [185]. А. Yoshida с соавт. в своей работе [224] сообщили, что живые *L. lactis* C59, выделенные из стартерных молочных культур, подавляли продукцию специфических IgE у мышей путем регулирования IL-4. Но механизм, за счет каких структур клетки оказывали влияние на цитокины, до конца не изучен.

Известно о способности влияния лактобацилл на систему иммунитета, которое проявляется в стимуляции фагоцитарной активности нейтрофилов, макрофагов, синтеза иммуноглобулинов, образования интерферонов, интерлейкинов и фактора некроза опухолей [61, 174, 205]. Представители рода *Lactobacillus* стимулируют подавленную иммунную систему и не влияют на иммунную систему, находящуюся в нормальном состоянии [50]. Они способны стимулировать систему перитонеальных макрофагов, активировать клетки и структуры, связанные с морфологическим субстратом клеточного иммунитета [47, 152].

В последнее время большее внимание уделяется изучению физиологической роли ЭПС молочнокислых бактерий в организме животных и человека. Продуцируемые молочнокислыми бактериями ЭПС, как и ЭПС других бактерий, можно разделить на две группы [14]: гомополисахариды, состоящие из одного типа повторяющихся моносахаридов, и гетерополисахариды, состоящие из двух и более различных типов моносахаридов. Чаще всего в состав мономерных звеньев ЭПС входят D-глюкоза, D-галактоза, D-манноза, L-фукоза (6-дезоксид-L-галактоза) и L-рамноза (6-дезоксид-L-манноза). Наряду с олигосахаридами в состав ЭПС могут входить уроновые кислоты (например, глюкуроновая) и аminosахары (обычно N-ацетилированные). Декстраны – наиболее известная группа гомополисахаридов, состоящая из близких по строению нейтральных глюканов. Среди молочнокислых бактерий наиболее активными

продуцентами декстранов являются *L. dextranicum* и *L. mesenteroides* [178]. Также декстраны синтезируются некоторыми видами родов *Streptococcus* (*S. sanguis*, *S. mutans*) и *Lactobacillus* (*L. brevis*, *L. buchneri*, *L. casei subsp. rhamnosus*). Гетерополисахариды синтезируются многими мезофильными (*L. lactis*, *L. sakei*) и термофильными молочнокислыми бактериями (*L. acidophilus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. helveticus*, *S. thermophilus*) [140, 173].

Имеются работы, посвященные участию ЭПС молочнокислых бактерий в осуществлении различных биологических функций.

В отношении молочнокислых ЭПС известно, что они обладают антимикробной активностью: ЭПС-содержащая закваска (сочетающая *B. longum* В379М и *Propionibacterium shermanii* КМ 186 и их полисахариды) [55], лаксаран (экзополисахарид молочнокислой бактерии *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus*) [97-100].

Экзополисахариды таких молочнокислых бактерий, как *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *B. adolescentes*, *L. rhamnosus*, *L. kefiranofaciens* обладают иммуностимулирующим эффектом [24, 25, 78, 80, 120, 126, 133, 154, 163, 164, 171, 217]. Биополимеры этих бактерий способны повышать продукцию иммунокомпетентными клетками провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 $\alpha$  и ФНО- $\alpha$ , играющих важную роль в активации макрофагов и лимфоцитов. Так, некоторые ЭПС молочнокислых бактерий способны оказывать влияние на скорость процесса фагоцитоза [25, 155, 183], однако эти работы, в основном относятся к ЭПС бактерий рода *Lactobacillus* – *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *L. rhamnosus*, *L. kefiranofaciens*.

В последние годы появились работы, посвященные участию ЭПС в осуществлении иммуномодулирующей функции молочнокислыми бактериями. Так, ЭПС *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* В-1596, *L. delbrueckii* В-1936 и *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* оказывают влияние на содержание

цитокинов в сыворотке крови лабораторных мышей при инфекционном процессе, способствует укреплению иммунной системы [24, 25, 80].

Экзополисахарид *B. bifidum* YIT4007 увеличивал продукцию простагландина макрофагами [180]. В отношении ЭПС *B. thermoacidophilum* RBL81, RBL82 и RBL64 обнаружено, что они обладают высокой стимуляцией пролиферации спленоцитов и ИФ- $\gamma$ , ИЛ-10 [119]. Экзополисахариды *B. animalis subsp. lactis* оказывают влияние на иммунную систему, специфически стимулируя TLR4 в эпителиальных клетках кишечника [130].

Экзополисахарид *L. kefiranofaciens* индуцирует синтез цитокинов макрофагами: в сыворотке крови и кишечной жидкости увеличивалась концентрация цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12) по сравнению с контролем. Было установлено, что ЭПС, индуцированные молочнокислыми бактериями, находящимися в кишечнике, влияют на защитный иммунитет, поскольку обладают способностью поддерживать равновесие кишечной микрофлоры и оказывать влияние на иммунитет, воздействуя на цитокины, повышая их концентрацию в крови [217]. Полисахарид *L. lactis ssp. cremoris* KVS 20, стимулируя макрофагов, индуцирует продукцию цитокинов IFN-гамма и IL-1 $\alpha$  и регулирует их синтез [162]. Кислая фракция ЭПС *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 1073 R-1 в эксперименте увеличивала митогенные ответы спленоцитов у мышей [163]. Подобный эффект, оказываемый на спленоциты мышей ЭПС *L. bulgaricus* OLL1073R-1, был установлен и другими авторами – S. Makino с соавт. [171] и J. Nishimura-Uemura с соавт. [183], а также и для ЭПС *S. thermophilus* OLS3059 [171], выделенных из йогурта. Также при пероральном введении мышам ЭПС *S. thermophilus* OLS3059 были отмечены: активация макрофагов мышей, увеличение выработки интерферона-гамма, увеличение активности естественных клеток-киллеров. Полисахариды, продуцируемые другой лактобациллой – *L. rhamnosus* RW-9595M, также обладали

иммуномодулирующими свойствами в отношении спленоцитов мышей за счет стимуляции выработки макрофагами ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-12, ИФ- $\gamma$  [133]. Дальнейшие исследования ЭПС *L. delbrueckii* OLL1073R-1 показали, что он модулирует врожденный противовирусный иммунный ответ в эпителиальных клетках кишечника на примере свиньи, и авторы рекомендовали данный ЭПС в пищу с целью защиты от кишечных вирусов [160].

Экзополисахарид *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* OLL 1073R-1 стимулирует митогенные реакции мышечных спленоцитов и пятен Пейера и является мощным В-клеточно-зависимым митогеном, в котором фосфатная группа действует как триггер митогенной индукции [163].

Антимутагенная и антиканцерогенная функция пробиотических штаммов обуславливается в том числе и полисахаридами [52, 61]. Некоторые штаммы *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* и *Bifidobacterium spp.* и их продукты брожения являются антимутагенными и антиканцерогенными. Так, ЭПС *L. rhamnosus* УНОС 137 показал высокую адсорбцию мутагенов [210], а ЭПС *B. bifidum* УИТ 4007, *B. breve* УИТ4014, *B. breve* 4043, *L. lactis ssp. cremoris* KVS обладают антиканцерогенными свойствами [165, 180, 210].

Как известно, в осуществлении пищеварительной функции главная роль отведена микроорганизмам семейства *Bifidobacterium* и другим молочнокислым бактериям [52]: деконъюгация желчных кислот микроорганизмами определяет гипохолестеринемический эффект микробиоты. Дефицит бифидобактерий и лактобактерий и активные воспалительные процессы в толстой кишке способствуют накоплению в организме холестерина [222]. Установлено, что ЭПС *L. lactis subsp. cremoris* SBT 0495, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* Lb-18 и Lb-10442, *S. thermophilus* St-143 оказывают благотворное влияние на метаболизм холестерина у крыс, понижая уровень холестерина в крови [181, 191].

Один из самых известных полисахаридов молочнокислых бактерий, который нашел широкое применение в медицине, – это декстран, продуцируемый *L. mesenteroides*, *Streptobacterium dextranicum* В-1254 [131, 197]. Так, декстран *L. mesenteroides* NRRL В-512 в концентрации 6% близок по своим осмотическими и реологическими свойствам к плазме крови человека [215]. На основе декстрана изготавливают множество препаратов, применяемых в медицине (полиглюкин, полиглюсолев, полифер, реополиглюкин, реомакродекс, реоглюман, промит) [12].

Экзополисахариды также рекомендованы в качестве пребиотических препаратов и добавок в функциональных продуктах для профилактики гастритов, колитов, эрозий и других заболеваний желудочно-кишечного тракта: ЭПС *L. helveticus* Lh59, *S. thermophilus* SFi39, SFi12 и SFi20, *L. sake* О-1, за счет и полного, и частичного разрушения в ЖКТ и образования в результате этого олигосахаров, которые являются питательным субстратом для полезной микробиоты кишечника [203].

Экзополисахариды *L. cremoris* КН и *L. lactis* С2, способствуя адсорбции бактериофагов Kh и sK1 соответственно, выполняют защитную роль в организме животных [214].

В отношении экзополисахаридов *S. thermophilus* CRL 1190 и CRL 804 на модели гастрита *in vivo* отмечен иммуностимулирующий эффект [199].

Установлено, что содержание в бактериальных комплексах ЭПС *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* способствует улучшению аппетита, роста волосяного покрова и более активному движению у мышей [99, 100]. Согласно данным авторов [60, 100] экзополисахариды *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* В-1596, *L. delbrueckii* В-1936 и *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, после их внутрибрюшинного введения мышам, оказывали положительное влияние на микрофлору толстого отдела кишечника мышей: увеличивали количество молочнокислых бактерий и уменьшали количество стафилококков и бактерий группы кишечной палочки.

Отмечено увеличение массы тела и числа молочнокислых бактерий в кишечнике у цыплят при их кормлении ЭПС *S. thermophilus* [105].

Встречаются данные и о способности полисахаридов молочнокислых бактерий проявлять ранозаживляющие свойства, однако такие сведения не многочисленны [80]. Так, на основе декстрана и эпихлоргидрина образуется высокомолекулярный комплекс нерастворимый в воде, который используется в качестве искусственной кожи, способствуя быстрому заживлению ран [170].

Как известно, анаэробы, выделенные из разных биотопов живого организма и клинических образцов, представлены 81 родами и 26 семействами, в состав которых входят молочнокислые бактерии, таксономически относящиеся к *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* [39], также имеются данные о небольшом содержании молочнокислых кокков в облигатной микрофлоре [42, 51, 87, 123, 124, 138, 182]. Грамположительные кокки – *S. thermophilus* и рода *Lactococcus* – благодаря своим свойствам находят применение в качестве пробиотических микроорганизмов [51, 138, 148, 169], а также используются в качестве заквасочных культур для приготовления продуктов питания – йогуртов и сыров.

Таким образом, литературные данные свидетельствуют о значительном участии лактококков и стрептококков в организменных процессах [162, 165, 177, 199, 214, 224], однако роль ЭПС этих бактерий в организме животных не является достаточно изученной. В связи с этим изучение биологической активности ЭПС таких молочнокислых бактерий как *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* с целью их практического применения является актуальным.

## 2. Экспериментальная часть

### 2.1. Объекты и методы исследований

Объектами исследования явились, выделенные нами [101, 104], ЭПС молочнокислых культур *Lactococcus lactis* В-1662 и *Streptococcus thermophilus*. Культура *L. lactis* В-1662 была получена из Всероссийской коллекции микроорганизмов (г. Пущино), *S. thermophilus* – из ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (г. Москва).

Выделение ЭПС проводили по общепринятому методу [130] в нашей модификации [101, 104]. Для получения ЭПС бактерии выращивали на среде А. Welman [220] с рН 5,5 при температуре 27° С в течение 48 часов для *L. lactis* В-1662 и при 38 °С в течение 48 ч для *S. thermophilus* соответственно на шуттель-аппарате (Шейкер-инкубатор ES-20, Литва) при 180 об/мин. В состав среды А. Welman входили: сахароза – 20 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, гидролизат казеина – 20 г/л,  $K_2HPO_4$  – 2 г/л,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,1 г/л,  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  – 0,05 г/л, цитрат аммония – 2 г/л, ацетат натрия – 5 г/л, твин-80 – 1 мл/л [220]. После культивирования бактерий на среде А. Welman, культуральную жидкость центрифугировали при 3000 g в течение 30 мин. Осадок биомассы удаляли, а надосадочную жидкость упаривали и к ней добавляли двойной объём 96% этилового спирта. Переосаждение и центрифугирование повторяли 3 раза. Дальнейшую очистку ЭПС проводили методом гель-фильтрации на колонке с носителями Sephadex G-10 и G-50 для лактококка и стрептококка соответственно. Выделенные ЭПС высушивали до состояния порошка на лиофильной сушке COOLSAFE 55-4 SISTEM (ScanLaf, Дания). Определяли белок по методу [127] и нуклеиновые кислоты по методу [62]. Концентрацию углеводов определяли фенол-серным методом [141].

Полученные после выделения и очистки ЭПС представляли собой порошки светло-коричневого цвета, без запаха, не имеющие в своем составе белок и другие примеси. Экзополисахарид *L. lactis* В-1662 представлен одной нейтральной фракцией и в его состав входят ксилоза и глюкоза (1:1), а также следовые количества рамнозы (5,8%), молекулярная масса 10 кДа [102, 103, 106]. Экзополисахарид *S. thermophilus* также представлен одной нейтральной фракцией, в состав которой входят рамноза, галактоза, манноза (1:2:1), а также следовые количества глюкозы (4,4%), молекулярная масса 20 кДа. Изучаемые ЭПС обладают низкой вязкостью (относительная вязкость составила 1,3 и 1,2 мм<sup>2</sup>/с для лактококка и стрептококка соответственно) [102, 103].

### 2.1.1. Определение токсичности экзополисахаридов

Исследование токсичности ЭПС *S. thermophilus* и *L. lactis* В-1662 проводили по стандартной экспресс-методике определения общей токсичности кормов, кормовых добавок, в том числе продуктов микробного синтеза с использованием простейших *C. steinii* и белых новозеландских кроликов в качестве тест-объектов [29].

Регистрацию и оценку активности инфузорий (скорость движения, частота изменения направления движения, характер движения) осуществляли микроскопированием (ОРТИКА Microscopes В-500Вsp) в лунках, которые полностью попадали в поле зрения микроскопа при увеличении  $\times 16$ . Наблюдения проводили сразу и каждые 15 минут в течение 1 часа для водных растворов ацетоновых экстрактов исследуемых ЭПС и в течение 3 часов при добавлении водных растворов ЭПС.

Критерием определения токсичности служило время от начала воздействия исследуемых ЭПС до гибели большинства (90%) инфузорий, факт которой констатируют на основании полного прекращения ими движения и наличия лизиса клеток.

Для определения токсичности кожной пробой у кроликов проводили наблюдение за реакцией кожи в течение 3 суток. В качестве контроля выступал оголенный участок кожи на межлопаточном пространстве, на который ничего не наносили. Токсичность ЭПС определяли по наличию воспалительного процесса на коже.

### **2.1.2. Определение антимикробной активности молочнокислых бактерий и их экзополисахаридов**

Антимикробную активность культур *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и их ЭПС определяли, используя метод диффузии в агар [40, 46]. Для этого использовали мясо-пептонный агар (МПА) и агар Сабуро, которые в количестве 20 мл разливали в чашки Петри, затем наслаивали 2 мл 0,8% бактериологического агара (ГРМ-агар), содержащего 0,2 мл соответствующей микробной взвеси ( $10^6$  кл/мл). После застывания агара в лунки вносили по 0,1 мл водного раствора изучаемого ЭПС в концентрации 0,006 г/л и 0,06 г/л. Концентрация 0,06 г/л была взята из расчета минимальной рекомендованной суточной дозы потребления ЭПС организмом человека [16]. Пробы инкубировали в термостате при температуре, соответствующей температуре выращивания взятых в эксперимент микроорганизмов.

В качестве тест-микробов использовали микроорганизмы, относящиеся к различным таксономическим группам (Таблица 1).

Об антимикробной активности исследуемых ЭПС судили по размеру зон подавления роста.

Таблица 1 – Микроорганизмы, используемые в работе

Микроорганизмы	Место получения
<i>Escherichia coli</i> 113-13	Коллекция штаммов микроорганизмов кафедры микробиологии и физиологии растений СНИГУ им. Н.Г. Чернышевского
<i>E.coli</i> ATCC 25922	Музей кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии СГМУ им. В.И. Разумовского
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> K2	
<i>Candida albicans</i> 223	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AT-31	Коллекция ризосферных бактерий Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение ФГБУН ФИЦ «Саратовский научный центр Российской академии наук»
<i>Bacillus subtilis</i> 262	
<i>Candida albicans</i> 13108	Музей культур Саратовского научно-исследовательского ветеринарного института – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии»

### 2.1.3. Моделирование процесса фагоцитоза

При моделировании процесса фагоцитоза использовали суточную культуру *S. aureus* 209-P. Для моделирования процесса фагоцитоза использовали готовую стерильную среду 199 (ООО НПП «ПанЭко», Россия).

Экзополисахариды однократно вводили лабораторным белым мышам (самцы массой 20 г, возрастом 2 – 3 месяца) в концентрации 0,06 г/л по 0,2 мл внутрибрюшинно. Экспериментальные исследования выполняли в соответствии с требованиями Федерального закона от 01.01.1997 г. «О

защите животных от жестокого обращения» и положениями Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.1986 г.). Мышей содержали в стандартных условиях вивария ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. Исследовали три группы животных: 1 группа – контрольная: интактные мыши; 2 группа – мыши, которым вводили ЭПС *L. lactis* В-1662; 3 группа – мыши, которым вводили ЭПС *S. thermophilus*. Животных умерщвляли ингаляцией эфиром. Перитонеальные и альвеолярные макрофаги выделяли на 1, 3, 5 и 7 сутки после введения ЭПС по общепринятым методикам [44]. Бактериальные клетки добавляли во взвесь макрофагов в культуральной жидкости в соотношении 50:1 и инкубировали при 37 °С. Активность макрофагов на разных стадиях фагоцитоза оценивали через 30 минут, 1, 6 и 24 часа инкубации. Учет результатов осуществляли микроскопически, предметные стекла с макрофагами окрашивали по Романовского-Гимзе [57]. Контрольную пробу (без бактерий) инкубировали в течение 30 минут.

Были определены: фагоцитарный индекс (ФИ), индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) и индекс активации киллинга (ИАК) [44].

Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) определяли по формуле:

$$ИЗФ = \frac{ФИ_1 - ФИ_2}{ФИ_1}, \text{ где}$$

ФИ – фагоцитарный индекс, число макрофагов, захвативших бактерий,

ФИ<sub>1</sub> – число активных макрофагов через 1 час,

ФИ<sub>2</sub> – число активных макрофагов через 24 часов после инкубации.

С помощью ИЗФ определяли завершенный или незавершенный фагоцитоз. Если ИЗФ ≥ 1 – процесс фагоцитоза завершенный, если 0 < ИЗФ < 1 – частичное переваривание микробных клеток, а если ИЗФ < 0 – то фагоцитарный процесс не завершен.

Индекс активации киллинга рассчитывали по формуле:

$$ИАК = ИЗФ (оп.) - ИЗФ (к.), \text{ где}$$

ИЗФ (оп.) – индекс завершенности фагоцитоза в опыте,

ИЗФ (к.) – индекс завершенности фагоцитоза в контроле.

#### **2.1.4. Определение провоспалительных цитокинов**

Для определения провоспалительных цитокинов интерлейкин-1 $\alpha$  (ИЛ-1 $\alpha$ ) и фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) экзополисахариды в концентрации 0,06 г/л вводили однократно по 0,2 мл внутривентрально беспородным белым мышам-самцам массой 18-20 г, возрастом 2-3 месяца. Альвеолярные и перитонеальные макрофаги выделяли из легких и брюшной полости по общепринятой методике [44] на 1, 3, 5 и 7 сутки после введения экзополисахаридов. В качестве объекта фагоцитоза использовали суточную культуру *S. aureus* 209-P, полученную из музея кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России. Провоспалительные цитокины, продуцируемые макрофагами в процессе фагоцитоза, определяли с помощью иммуноферментных моноклональных тест-систем (ООО «Цитокин», г. Санкт-Петербург). Результаты учитывали на микропланшетном фотометре Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США) при 450 нм. По значениям оптической плотности стандартных образцов строили калибровочные кривые и с учетом оптической плотности образцов определяли концентрации цитокинов.

#### **2.1.5. Определение живой массы, биохимических и микробиологических показателей рыб**

Исследования проводили на базе научно-исследовательской лаборатории «Технологии кормления и выращивания рыбы» Саратовского государственного аграрного университета имени Н.И. Вавилова. Для эксперимента использовали ленского осетра.

Эффективность введения экзополисахарида в рацион ленского осетра при выращивании в аквариумной установке определяли по рыбоводно-биологическим, физиологическим и товарным показателям.

Нормы кормления и количество вводимого полисахарида определяли на основе результатов контрольных взвешиваний по общепринятой методике. Массу рыб определяли на весах платформенных электронных «Меркурий 330» (Россия).

Определение биохимических показателей крови осетровых рыб осуществляли на биохимическом анализаторе CHEM WELL (США).

Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в кишечнике рыб определяли методом последовательных разведений [46] на мясо-пептонном агаре (МПА), количество молочнокислых бактерий – на среде лактобакагар (ЛБА).

#### **2.1.6. Определение органолептических показателей рыбной продукции**

Органолептические показатели мяса рыбы оценивали по следующим показателям: внешний вид, цвет, консистенция, вкус, запах; бульона – внешний вид (прозрачность), цвет, вкус, запах по 5-бальной шкале [27, 28].

#### **2.1.7. Создание пленочных покрытий на основе экзополисахаридов молочнокислых бактерий**

Создание пленочных покрытий на основе ЭПС молочнокислых бактерий проводили по методам [63, 73] в нашей модификации.

#### **2.1.8. Определение физических свойств пленочных покрытий**

Прочность и растяжимость пленочных покрытий определяли с помощью «СТЗ 4500 Brookfield» (США). Толщину пленочных покрытий определяли на приборе Roadweller RW-TM-05 (Китай). Динамическую

вязкость растворов пленочных покрытий определяли с помощью ротационного вискозиметра Thermo Scientific HAAKE Viscotester 7R (Германия) с ротором R5 и скоростью вращения от 60 – 100 об/мин.

### 2.1.9. Моделирование ожога у крыс

Ожог моделировали на самках белых беспородных крыс массой 270-300 г, прошедших карантин в течение 14 суток. Экспериментальные исследования выполняли в соответствии с требованиями Федерального закона от 01.12.1999 г. «О защите животных от жестокого обращения» и положениями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18.03.1986 г.). Животные содержались при стандартных условиях содержания и кормления в виварии. За сутки до эксперимента крысы были продепигментированы путем выщипывания шерсти на обозначенной для ожога кожной поверхности. Для проведения эксперимента крысы были разделены на 7 групп. Контрольные: 1 группа – интактные животные, 2 группа – контрольные животные, у которых вызывали ожог, 3 группа – животные, у которых вызывали ожог и после ожога наносили коммерческий препарат 5% декспантенол («Пантодерм», АО «АКРИХИН», Россия); опытные: 4 группа – животные, у которых вызывали ожог и на который ежедневно наносили пленочное покрытие на основе ЭПС *L. lactis* В-1662, 5 группа – животные, на ожог которых ежедневно наносили пленочное покрытие на основе ЭПС *S. thermophilus*, 6 группа – животные с ожогом, для заживления которого применяли раствор ЭПС *L. lactis* В-1662 в концентрации 0,06 г/л, 7 группа – животные с ожогом, для заживления которого применяли раствор ЭПС *S. thermophilus* в концентрации 0,06 г/л.

Ожог степени IIIa моделировали под эфирным наркозом на межлопаточном пространстве крысы дном пробирки (площадь – 2х2 см) с кипящей водой (2/3 объема пробирки) в течение 30 секунд [79]. Нанесение

5% декспантенола и ЭПС в виде пленочных покрытий на место ожога осуществляли сразу же после воспроизведения ожога и далее ежедневно в течение 28 суток. О процессе заживления ожога судили по изменению площади поврежденной поверхности, восстановлению шерстного покрова, зарастанию ран [79] через 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 23, 25 и 28 сутки. Эксперимент проводили в трех повторностях.

#### **2.1.10. Определение микрофлоры ожогов у крыс**

Для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) ожогов крыс использовали мясо-пептонный агар (МПА); бактерий группы кишечной палочки (БГКП) – среды Кесслер и Эндо; стафилококков – солевой бульон и желточно-солевой агар (ЖСА). Смывы с поверхности ран (2x2 см) у крыс контрольных и опытных групп для определения микрофлоры делали в течение всего эксперимента через 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 23, 25 и 28 сутки.

#### **2.1.11. Определение форменного состава лейкоцитов крови крыс при ожогах**

Для дифференциального подсчета лейкоцитов проводили визуальную микроскопическую оценку сухих фиксированных окрашенных по Романовскому-Гимза [57] мазков крови. Лейкоциты подсчитывали по методу зигзага (по линии «Меандра») [57] через 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 23, 25 и 28 сутки.

#### **2.1.12. Статистическая обработка**

Статистическую обработку полученных данных осуществляли по стандартным методам [22] с использованием параметрического t-критерия Стьюдента (достоверными считали различия при вероятности ошибки  $p < 0,05$ ). Использовали программу StatPlus 2007 Professional 4.9.4.1.

## 2.2. Результаты исследований и их обсуждение

### 2.2.1. Оценка токсичности экзополисахаридов *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на тест-объектах *C. steinii* и кроликах

В связи с возрастающим применением бактериальных полисахаридов в пищевой промышленности, медицине, фармакологии, ветеринарии наряду с изучением их физико-химических свойств определяют и их биологические свойства, например, токсичность. Несмотря на то, что изучаемые экзополисахариды выделены из молочнокислых микроорганизмов, которые не являются токсичными [107] и обладают статусами безопасности GRAS и QPS, была определена токсичность изучаемых ЭПС.

Токсичность определяли согласно стандартной экспресс-методике определения общей токсичности на простейших и на белых новозеландских кроликах. Животных содержали в стандартных условиях вивария ФГБУ «Саратовская межобластная ветеринарная лаборатория».

Для биотестирования на простейших использовали суточную культуру инфузорий *C. steinii*. Инфузории культивировали в чашках Петри с дистиллированной водой и с добавлением сухих пекарских дрожжей в качестве корма при температуре 24 – 26 °С. В дальнейшем инфузорий отбирали пипеткой и вносили в лунки планшета по 0,2 мл (при этом в лунку попадало около 30 инфузорий). Для тестирования в одну линию лунок к инфузориям добавляли 0,2 мл водного раствора ацетоновых экстрактов исследуемых ЭПС, а в другую – 0,2 мл водные растворы ЭПС в концентрации 0,06 г/л, для каждого исследования использовали 5 повторностей (5 лунок). Водный раствор ацетонового экстракта ЭПС приготавливали следующим образом: в коническую колбу со шлифом вносили навеску ЭПС и ацетона (из расчета 1:1,5), затем ее энергично встряхивали 2 мин, после отстаивания в течение 10 мин автоматической пипеткой отбирали 0,5 мл надосадочной жидкости экстрактов и переносили

ее в колбу с 40 мл водного раствора Лозина-Лозинского. Для приготовления водного экстракта навеску ЭПС вносили в колбу с дистиллированной водой (из расчета 1:10), далее колбу встряхивали в течение 20 мин на лабораторном шейкере (Шейкер лабораторный SHO-R-2D, DAIHAN SCIENTIFIC, Корея), после чего смесь фильтровали.

Наблюдения проводили каждые 15 мин в течение 3 часов. При регистрации и оценке активности (скорость движения, частота изменения направления движения, характер движения) тест-организмов *C. steinii* под влиянием ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* было показано (Таблица 2), что в течение эксперимента и по его истечении изменений в скорости и характере движения не наблюдали, 100% простейших остались подвижными, что согласно ГОСТ 31674-2012 [29] свидетельствовало о нетоксичности исследуемых ЭПС.

Таблица 2 – Влияние ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на *C. steinii*

Время, мин	Активность <i>C. steinii</i>		
	Контроль (без ЭПС)	ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	ЭПС <i>S. thermophilus</i>
15	спокойное равномерное движение	спокойное равномерное движение, 100% живых клеток	спокойное равномерное движение, 100% живых клеток
30-180	спокойное равномерное движение	спокойное равномерное движение, 100% живых клеток	спокойное равномерное движение, 100% живых клеток

Для определения токсичности кожной пробой у кроликов готовили экстракт из навески ЭПС в концентрации 0,06 г/л и ацетона (1:3) и экстрагировали в течение 3 ч на лабораторном шейкере. Далее жидкость фильтровали и концентрировали в вытяжном шкафу для полного удаления ацетонового запаха. Далее у кроликов на участке кожи 6х6см в межлопаточной области выстригали шерстный покров, на который наносили шпателем половину экстракта, другую половину наносили на следующий день. Наблюдение за реакцией проводили в течение 3 суток через час и

спустя 6, 12, 24, 48, 72 ч. В качестве контроля выступал оголенный участок кожи, на который ничего не наносили. В ходе эксперимента и по истечении 3 суток гиперемии и шелушения кожи кроликов не наблюдали, что говорит о безопасности ЭПС (Таблица 3).

Таблица 3 – Влияние ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на кожу кроликов

Время, ч	Реакция кожи кроликов		
	Контроль (без ЭПС)	ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	ЭПС <i>S. thermophilus</i>
1	бледно-телесный цвет кожи, отсутствие шелушения	отсутствие изменений цвета кожи	отсутствие изменений цвета кожи
6-72	бледно-телесный цвет кожи, отсутствие шелушения	отсутствие гиперемии и шелушения кожи	отсутствие гиперемии и шелушения кожи

Таким образом, все вышеизложенные результаты позволили отнести ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* к нетоксичным согласно ГОСТ 31674-2012 [29].

### **2.2.2. Влияние *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и их экзополисахаридов на микроорганизмы**

В процессе изучения антимикробного действия культур *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и их ЭПС на рост ряда микроорганизмов было показано, что культура *L. lactis* В-1662 проявляла антимикробную активность в отношении *E. coli* 113-13 и АТСС 25922, *S. aureus* 209-Р, *P. aeruginosa* АТ-31 и АТСС 27853, *B. subtilis* 262 (Таблица 4). Судя по зонам лизиса (Таблица 4), лактококк проявлял бактерицидные свойства в меньшей степени в отношении исследуемых тест-культур, чем термофильный стрептококк. Лактококк не подавлял рост *K. pneumoniae* К2 и грибов *C. albicans* 223 и 13108.

Таблица 4 – Влияние *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на рост некоторых микроорганизмов

Микроорганизмы	Наличие зон подавления роста, мм	
	<i>L. lactis</i> В-1662	<i>S. thermophilus</i>
<i>Escherichia coli</i> 113-13	9,0±0,2	11,2±0,2
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9,2±0,2	11,0±0,4
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-Р	9,7±0,4	11,5±0,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	9,5±0,4	11,7±0,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> АТ-31	9,7±0,4	11,5±0,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> К2	–	14,0±0,4
<i>Bacillus subtilis</i> 262	9,0±0,2	–
<i>Candida albicans</i> 223	–	–
<i>Candida albicans</i> 13108	–	–

Примечание – «–» – отсутствие зон роста.

Термофильный стрептококк подавлял рост следующих тест-культур: *E. coli* 113-13 и ATCC 25922, *S. aureus* 209-Р, *K. pneumoniae* К2, *P. aeruginosa* АТ-31 и ATCC 27853. Наибольшая зона лизиса наблюдалась у *K. pneumoniae* К2 (Таблица 4). В отношении же *B. subtilis* 262 и грибов рода *Candida*, также как и у лактококка, антимикробный эффект не наблюдали. отсутствие угнетения роста (–).

Полученные данные согласуются с работами других исследователей по ингибированию молочнокислыми бактериями роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, таких как *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* [48, 137, 147, 173]. Лактобациллы и лактококки, выделенные из кефирного грибка, по данным [147] способны эффективно подавлять *S. aureus* и были менее активны в отношении *E. coli* и *P. aeruginosa*. В работах S. Resta-Lenert и К. Е. Barrett [196] было показано, что антитоксическим и антимикробным эффектом за счет молочной кислоты обладали: *L. acidophilus* и *L. rhamnosus* GG (*C. difficile*, *E. coli*), *S. thermophilus* и *L. plantarum* (к *E. coli*).

В то же время, как видно из таблицы 4, отсутствовали зоны подавления роста *C. albicans* 223 и 13108, полученные результаты согласуются с литературными данными [48] и объясняются тем, что избыток лактококков приводит к нарушению кислотно-щелочного баланса в сторону большей кислотности, тем самым создавая идеальные условия для размножения кандиды.

Известно, что антимикробное действие молочнокислых бактерий объясняется продуцированием таких веществ, как молочная кислота [196], бактериоцины и антибиотики [91, 121, 212]. В литературе имеются сведения, что ЭПС молочнокислых бактерий, например, *B. longum* В379М, *P. shermanii* КМ 186 [55], *L. delbruekii* spp. *buigaricus* [97, 98] также могут оказывать антимикробное действие. Для проверки этого предположения было проведено исследование по определению антимикробной активности ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*.

Установив бактерицидное действие самих молочнокислых бактерий в отношении ряда условно-патогенных микроорганизмов для определения роли в этом их метаболитов – экзополисахаридов – в качестве тест-микробов использовали культуры: *E. coli* 113-13 и АТСС 25922, *P. aeruginosa* АТСС 27853 и АТ-31, *S. aureus* 209-Р, *K. pneumoniae* К2, *B. subtilis* 262, *C. albicans* 223 и 13108. ЭПС брали в двух концентрациях: 0,006 г/л и 0,06 г/л.

Изучение влияния ЭПС *L. lactis* В-1662 на рост тест-культур показало, что данный биополимер в концентрации 0,006 г/л оказывал антимикробное воздействие на *S. aureus* 209-Р, *P. aeruginosa* АТ-31 и АТСС 27853, *B. subtilis* 262, а при концентрации 0,06 г/л еще и на *E. coli* 113-13 и АТСС 25922 (Таблица 5).

Таблица 5 – Влияние экзополисахарида *L. lactis* В-1662 на рост некоторых микроорганизмов

Культуры микроорганизмов	Наличие зон подавления роста, мм	
	Концентрация ЭПС	
	0,006 г/л	0,06 г/л
<i>Escherichia coli</i> 113-13	–	18,5±0,4
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	–	18,0±0,6
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	12,0±0,4	21,0±0,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11,7±0,3	18,5±0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AT-31	12,0±0,4	18,2±0,4
<i>Klebsiella pneumoniae</i> K2	–	–
<i>Bacillus subtilis</i> 262	11,8±0,4	19,0±0,8
<i>Candida albicans</i> 223	–	–
<i>Candida albicans</i> 13108	–	–

Примечание – отсутствие угнетения роста (–).

При изучении антибактериального действия ЭПС *S. thermophilus* в концентрациях 0,006 г/л и 0,06 г/л было обнаружено угнетение роста таких бактерий, как *E. coli* 113-13 и ATCC 25922, *S. aureus* 209-P, *K.pneumoniae* K2 (Рисунок 1), *P. aeruginosa* AT-31 и ATCC 27853. Однако ЭПС в концентрации 0,06 г/л оказывал большее бактерицидное действие на тест-культуры. Диаметр стерильных зон составлял 21 – 40 мм (Таблица 6).

Также как и ЭПС *L. lactis* В-1662, ЭПС *S. thermophilus*, взятый в концентрации 0,06 г/л, оказывал большее бактерицидное действие в отношении тест-культур, чем в концентрации 0,006 г/л. Однако диаметр стерильных зон при влиянии ЭПС лактококка был меньше, чем при влиянии ЭПС стрептококка.

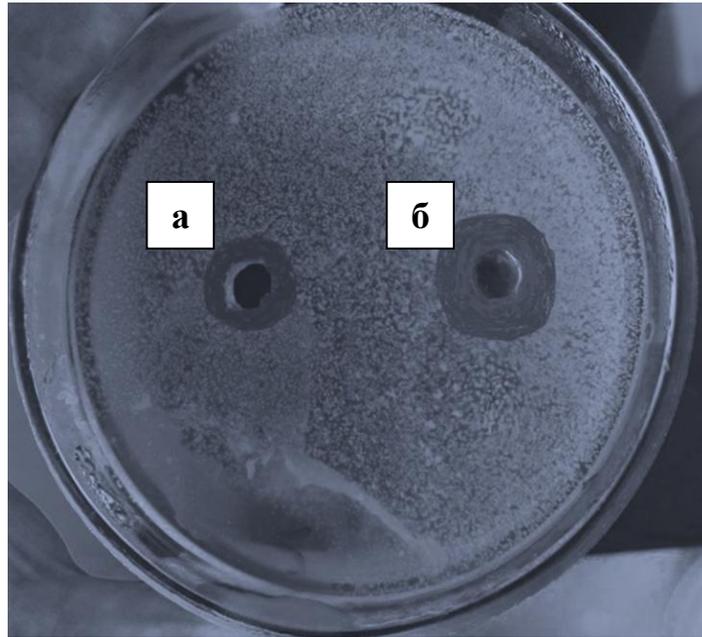


Рисунок 1 – Влияние ЭПС *S. thermophilus*  
(а – 0,006 г/л, б – 0,06 г/л) на рост *K. pneumoniae* К2

Таблица 6 – Влияние экзополисахарида *S. thermophilus* на рост некоторых микроорганизмов

Культуры микроорганизмов	Наличие зон подавления роста, мм	
	Концентрация ЭПС	
	0,006 г/л	0,06 г/л
<i>Escherichia coli</i> 113-13	12,2±0,4	23,7±0,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	12,0±0,3	21,0±0,4
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	12,7±0,5	20,5±0,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	13,0±0,6	23,5±0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AT-31	13,5±0,5	22,7±0,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> К2	24,0±0,7	40,2±0,8
<i>Bacillus subtilis</i> 262	–	–
<i>Candida albicans</i> 223	–	–
<i>Candida albicans</i> 13108	–	–

Примечание – отсутствие угнетения роста (–).

Основываясь на полученных результатах, можно предположить, что антибактериальное действие молочнокислых бактерий, наряду с другими

веществами (молочная кислота, антибиотики и др.), может обуславливаться и такими биополимерами, как ЭПС.

### 2.2.3. Влияние экзополисахаридов *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на процесс фагоцитоза макрофагами мышей

При изучении влияния ЭПС молочнокислых бактерий на процесс фагоцитоза макрофагами мышей исследовали три группы животных: 1 группа – контрольная – интактные мыши; 2 группа – мыши, которым вводили ЭПС *L. lactis* В-1662; 3 группа – мыши, которым вводили ЭПС *S. thermophilus*. Было показано, что у контрольной группы мышей, которым не вводили внутривенно ЭПС, максимальная активность макрофагов как ПМФ, так и АМФ, наблюдалась через 24 часа, причем активность АМФ в процессе фагоцитоза *S. aureus* 209-Р через 30 минут, 1, 6 и 24 часа была выше по сравнению с ПМФ (Таблица 9).

Таблица 9 – Влияние ЭПС *L. lactis* В-1662 на число фагоцитирующих макрофагов мышей в процессе фагоцитоза

Время иммуногенеза	Макрофаги	Количество активных макрофагов			
		30 мин	1 ч	6 ч	24 ч
контроль (без ЭПС)	ПМФ	7,0±0,3	9,0±0,5*	8,0±0,7*	15,0±0,5*
	АМФ	8,0±0,3	11,0±0,5*	8,0±0,5*	18,0±0,9*
1 сутки	ПМФ	4,0±0,5 <sup>•</sup>	5,0±0,2* <sup>•</sup>	22,0±0,5* <sup>•</sup>	8,0±0,4* <sup>•</sup>
	АМФ	4,0±0,4 <sup>•</sup>	7,0±0,4* <sup>•</sup>	23,0±0,8* <sup>•</sup>	9,0±0,5* <sup>•</sup>
3 сутки	ПМФ	5,0±0,4 <sup>•</sup>	8,0±0,5*	22,0±0,5* <sup>•</sup>	7,0±0,4* <sup>•</sup>
	АМФ	6,0±0,4 <sup>•</sup>	9,0±0,5* <sup>•</sup>	25,0±0,7* <sup>•</sup>	8,0±0,4* <sup>•</sup>
5 сутки	ПМФ	8,0±0,2 <sup>•</sup>	7,0±0,4* <sup>•</sup>	16,0±0,7* <sup>•</sup>	6,0±0,2* <sup>•</sup>
	АМФ	8,0±0,5	7,0±0,4 <sup>•</sup>	19,0±0,6* <sup>•</sup>	5,0±0,5* <sup>•</sup>
7 сутки	ПМФ	6,0±0,4	9,0±0,9*	10,0±0,4* <sup>•</sup>	7,0±0,6*
	АМФ	7,0±0,5	10,0±0,4*	11,0±0,3* <sup>•</sup>	7,0±0,8 <sup>•</sup>

Примечание –  $p \leq 0,05$  относительно: \* – показателя через 30 мин фагоцитоза в этой же группе; <sup>•</sup> – контроля.

В опытной группе животных, которым вводили ЭПС *L. lactis* В-1662, активность ПМФ и АМФ достигала максимума уже к 6 часам фагоцитоза *S. aureus* 209-Р на протяжении всего эксперимента и было достоверно выше контроля (Таблица 9). Количество активных ПМФ и АМФ было наибольшим на 3-5 сутки после введения ЭПС мышам и активность АМФ была также, как и в контроле, выше активности ПМФ.

При введении ЭПС *S. thermophilus* в организм мышей была отмечена аналогичная тенденция, как и в случае с ЭПС *L. lactis* В-1662. Наблюдали увеличение активности макрофагов к 6 часам как для ПМФ, так и АМФ. Активность АМФ также была выше активности ПМФ (Таблица 10).

Таблица 10 – Влияние ЭПС *S. thermophilus* на число фагоцитирующих макрофагов мышей в процессе фагоцитоза

Время иммуногенеза	Макрофаги	Количество активных макрофагов			
		30 мин	1 ч	6 ч	24 ч
контроль (без ЭПС)	ПМФ	7,0±0,3	9,0±0,5*	8,0±0,7*	15,0±0,5*
	АМФ	8,0±0,3	11,0±0,5*	8,0±0,5*	18,0±0,9*
1 сутки	ПМФ	6,0±0,5	8,0±0,4*	24,0±0,5*•	7,0±0,4•
	АМФ	8,0±0,6	10,0±0,5*	29,0±0,4*•	8,0±0,5•
3 сутки	ПМФ	7,0±0,6	9,0±0,5*	26,0±0,5*•	8,0±0,6•
	АМФ	7,0±0,4	10,0±0,5*	32,0±0,8*•	7,0±0,4•
5 сутки	ПМФ	7,0±0,4	9,0±0,6*	19,0±0,7*•	7,0±0,5•
	АМФ	8,0±0,5	10,0±0,6*	23,0±0,6*•	6,0±0,5*•
7 сутки	ПМФ	9,0±0,5	9,0±0,6	11,0±0,4*•	3,0±0,4*•
	АМФ	12,0±0,8	10,0±0,5*	15,0±0,6*•	2,0±0,8*•

Примечание –  $p \leq 0,05$  относительно: \* – показателя через 30 мин фагоцитоза в этой же группе; • – контроля.

В процессе дальнейших исследований были определены такие показатели как индекс завершенности фагоцитоза и индекс активации киллинга. Было установлено, что в контрольной группе животных к концу

эксперимента (7 суток) ИЗФ для ПМФ составил -0,70 и для АМФ -0,64, что свидетельствовало о незавершённости фагоцитарного процесса (Таблица 11). В опытной группе мышей, которым вводили ЭПС *L. lactis* В-1662, ИЗФ для ПМФ составил 0,23 и для АМФ 0,30, что говорило о частичном переваривании микробных клеток. На 7 сутки эксперимента ИАК увеличивался в 9,3 раза для ПМФ и в 1,5 раза для АМФ по сравнению с 1 сутками.

Таблица 11 – Влияние ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на индекс завершенности фагоцитоза и индекс активации киллинга

Время иммуногенеза	Макрофаги	ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662		ЭПС <i>S. thermophilus</i>	
		ИЗФ	ИАК	ИЗФ	ИАК
контроль (без ЭПС)	ПМФ	-0,70	0	-0,70	0
	АМФ	-0,64	0	-0,64	0
1 сутки	ПМФ	-0,60	0,10	0,13	0,83
	АМФ	-0,30	0,34	0,20	0,84
3 сутки	ПМФ	0,13	0,83	0,12	0,82
	АМФ	0,12	0,76	0,30	0,94
5 сутки	ПМФ	0,14	0,84	0,23	0,93
	АМФ	0,17	0,81	0,40	1,04
7 сутки	ПМФ	0,23	0,93	0,70	1,40
	АМФ	0,30	0,94	0,80	1,44

У опытных мышей, которым вводили ЭПС *S. thermophilus*, процесс фагоцитоза был частично завершен уже на 3 сутки и завершался к 7 суткам (Таблица 11) и составлял 0,70 для ПМФ и 0,80 для АМФ, что свидетельствовало практически о завершении фагоцитоза. Наблюдали увеличение переваривания микробных клеток (ИАК) для ПМФ и АМФ в 1,7 раз в обоих случаях по сравнению с 1 сутками. ИАК на 7 сутки у ПМФ и

АМФ был в 1,5 раза выше по сравнению с аналогичными показателями в опыте с ЭПС *L. lactis* В-1662. ИЗФ на 7 сутки у ПМФ был в 3 раза, АМФ в 2,6 раза выше по сравнению с воздействием ЭПС *L. lactis* В-1662.

Как видно из представленных данных, воздействие ЭПС стрептококка на макрофаги было более выраженным, чем ЭПС лактококка.

Таким образом, что активность макрофагов мышей, которым вводили экзополисахариды *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на 1, 3, 5 и 7 сутки существенно отличалась от контрольных значений на завершающих стадиях процесса фагоцитоза *S. aureus* 209-Р. Исследуемые ЭПС, влияя на ПМФ и АМФ, оказывают значительное воздействие на процесс фагоцитоза, что хорошо коррелирует с литературными данными относительно молочнокислых бактерий других родов и бактериями других видов [174, 183]. Известно, что тенденция влияния ЭПС на АМФ и ПМФ характерна и для ЭПС лактобацилл [25]. И наиболее выраженное влияние на процесс фагоцитоза оказывал ЭПС *S. thermophilus*: он активировал процесс фагоцитоза в несколько раз (в 3 и 2,6 раз для ПМФ и АМФ соответственно по сравнению с ЭПС *L. lactis* В-1662, о чем свидетельствуют значения ИЗФ) и ускорял завершение (в 1,5 раза для ПМФ и АМФ, о чем свидетельствуют значения ИАК); фагоцитоз был полностью завершён на 7 сутки. В связи с тем, что ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* в значительной мере, по сравнению с контролем, оказывали влияние на синтез провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\alpha$  и ФНО- $\alpha$ ), то можно предположить, что ЭПС молочнокислого стрептококка влияет на активность макрофагов через стимуляцию продукции провоспалительных цитокинов и тем самым приводит к увеличению поглотительной функции макрофагов.

#### **2.2.4. Влияние ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на цитокиновый статус мышей при моделировании стафилококковой инфекции**

Для изучения влияния изучаемых биополимеров на цитокиновый статус лабораторных мышей ЭПС в концентрации 0,06 г/л по 0,2 мл вводили внутрибрюшинно беспородным белым мышам. АМФ и ПМФ выделяли из легких и брюшной полости на 1, 3, 5 и 7 сутки после введения ЭПС.

При изучении влияния ЭПС *L. lactis* В-1662 на продукцию ИЛ-1 $\alpha$  в отношении АМФ максимальное увеличение продукции ИЛ-1 $\alpha$  по сравнению с контролем наблюдали в 1 (в 2,2 раза в 30 минут), 5 (в 1,8 раз в 30 минут) и 7 сутки (в 2 раза в 6 часов). Однако перитонеальные макрофаги продуцировали ИЛ-1 $\alpha$  выше контрольных в 2,9 и 7,7 раза на 1 (1 час) и 7 (24 часа) сутки соответственно (Таблица 7).

При изучении влияния ЭПС *L. lactis* В-1662 на продукцию ФНО- $\alpha$  макрофаги не были активны в продукции ФНО- $\alpha$  (Таблица 7).

Под действием экзополисахарида *S. thermophilus* альвеолярные макрофаги были наиболее активны в продуцировании ИЛ-1 $\alpha$  на 3 и 7 сутки (в 3,3 и 2,7 раз соответственно в 6 часов) процесса фагоцитоза. Тенденция к повышению продукции ИЛ-1 $\alpha$  наблюдалась и в отношении перитонеальных макрофагов на 5 и 7 сутки эксперимента. Продукция ПМФ ИЛ-1 $\alpha$  под действием ЭПС *S. thermophilus* через 24 ч фагоцитоза была выше контрольных значений в 3,2 и 1,3 раза для 5 и 7 суток соответственно (Таблица 8).

При изучении влияния ЭПС *S. thermophilus* на продукцию ФНО- $\alpha$  макрофаги также как и в случае с ЭПС *L. lactis* В-1662 не были активны в продукции ФНО- $\alpha$  (Таблица 8).

Таблица 7 – Влияние экзополисахарида *L. lactis* В-1662 на синтез ИЛ-1 $\alpha$  и ФНО- $\alpha$  макрофагами мышей при фагоцитозе *S. aureus* 209-Р

Макрофаги		Время процесса фагоцитоза			
		30 мин	1 ч	6 ч	24 ч
Содержание ИЛ-1 $\alpha$ , пг/мл					
Контроль	АМФ	54,30 $\pm$ 0,12	84,30 $\pm$ 0,14*	54,30 $\pm$ 0,12	558,00 $\pm$ 0,13*
	ПМФ	51,30 $\pm$ 0,12	57,30 $\pm$ 0,11*	53,30 $\pm$ 0,13	100,00 $\pm$ 0,15*
Опыт	1 сутки				
	АМФ	120,80 $\pm$ 0,11 <sup>•</sup>	119,30 $\pm$ 0,17 <sup>•</sup>	77,30 $\pm$ 0,20* <sup>•</sup>	131,30 $\pm$ 0,15* <sup>•</sup>
	ПМФ	107,30 $\pm$ 0,12 <sup>•</sup>	169,30 $\pm$ 0,25* <sup>•</sup>	146,80 $\pm$ 0,21* <sup>•</sup>	150,00 $\pm$ 0,25* <sup>•</sup>
	3 сутки				
	АМФ	80,30 $\pm$ 0,13 <sup>•</sup>	60,30 $\pm$ 0,32* <sup>•</sup>	47,80 $\pm$ 0,12* <sup>•</sup>	59,80 $\pm$ 0,19* <sup>•</sup>
	ПМФ	98,30 $\pm$ 0,12 <sup>•</sup>	66,80 $\pm$ 0,18* <sup>•</sup>	87,30 $\pm$ 0,21* <sup>•</sup>	114,80 $\pm$ 0,23* <sup>•</sup>
	5 сутки				
	АМФ	97,30 $\pm$ 0,27 <sup>•</sup>	79,80 $\pm$ 0,17 <sup>•</sup>	50,80 $\pm$ 0,11*	51,80 $\pm$ 0,13* <sup>•</sup>
	ПМФ	58,30 $\pm$ 0,25 <sup>•</sup>	89,30 $\pm$ 0,21 <sup>•</sup>	52,80 $\pm$ 0,25*	57,80 $\pm$ 0,18* <sup>•</sup>
	7 сутки				
	АМФ	65,80 $\pm$ 0,21 <sup>•</sup>	94,80 $\pm$ 0,13* <sup>•</sup>	110,30 $\pm$ 0,16* <sup>•</sup>	150,80 $\pm$ 0,15* <sup>•</sup>
	ПМФ	53,80 $\pm$ 0,2 <sup>•</sup>	64,30 $\pm$ 0,17* <sup>•</sup>	46,80 $\pm$ 0,22* <sup>•</sup>	775,80 $\pm$ 0,31* <sup>•</sup>
Содержание ФНО- $\alpha$ , пг/мл					
Контроль	АМФ	1,24 $\pm$ 0,22	1,32 $\pm$ 0,12	1,35 $\pm$ 0,17	1,60 $\pm$ 0,23
	ПМФ	1,20 $\pm$ 0,28	1,45 $\pm$ 0,23	2,30 $\pm$ 0,32	1,42 $\pm$ 0,15
Опыт	1 сутки				
	АМФ	1,37 $\pm$ 0,12	1,29 $\pm$ 0,13	1,39 $\pm$ 0,28	2,20 $\pm$ 0,11
	ПМФ	1,34 $\pm$ 0,11	1,50 $\pm$ 0,18	1,37 $\pm$ 0,16	1,40 $\pm$ 0,18
	3 сутки				
	АМФ	1,30 $\pm$ 0,22	1,37 $\pm$ 0,32	1,51 $\pm$ 0,15	2,40 $\pm$ 0,21
	ПМФ	1,50 $\pm$ 0,20	1,35 $\pm$ 0,18	1,5 $\pm$ 0,21	1,69 $\pm$ 0,17
	5 сутки				
	АМФ	1,45 $\pm$ 0,15	1,37 $\pm$ 0,21	1,47 $\pm$ 0,17	1,39 $\pm$ 0,11
	ПМФ	1,58 $\pm$ 0,12	1,45 $\pm$ 0,17	1,43 $\pm$ 0,18	1,40 $\pm$ 0,21
	7 сутки				
	АМФ	1,50 $\pm$ 0,23	1,40 $\pm$ 0,13	1,42 $\pm$ 0,21	1,57 $\pm$ 0,17
	ПМФ	1,40 $\pm$ 0,15	1,44 $\pm$ 0,27	1,60 $\pm$ 0,25	1,58 $\pm$ 0,15

Примечание –  $p \leq 0,05$  относительно: \* – показателя через 30 мин процесса фагоцитоза в этой же группе; <sup>•</sup> – контроля.

Таблица 8 – Влияние экзополисахарида *S. thermophilus* на синтез ИЛ-1 $\alpha$  и ФНО- $\alpha$  макрофагами мышей при фагоцитозе in vitro *S. aureus* 209-P

Макрофаги		Время процесса фагоцитоза			
		30 мин	1 ч	6 ч	24 ч
Содержание ИЛ-1 $\alpha$ , пг/мл					
Контроль	АМФ	54,30 $\pm$ 0,12	84,30 $\pm$ 0,14*	54,30 $\pm$ 0,12	558,00 $\pm$ 0,13*
	ПМФ	51,30 $\pm$ 0,12	57,30 $\pm$ 0,11*	53,30 $\pm$ 0,13	100,00 $\pm$ 0,15*
Опыт	1 сутки				
	АМФ	51,30 $\pm$ 0,22 <sup>•</sup>	44,80 $\pm$ 0,12* <sup>•</sup>	40,30 $\pm$ 0,24* <sup>•</sup>	782,00 $\pm$ 0,11* <sup>•</sup>
	ПМФ	96,80 $\pm$ 0,12 <sup>•</sup>	53,80 $\pm$ 0,21* <sup>•</sup>	55,30 $\pm$ 0,31*	84,80 $\pm$ 0,12* <sup>•</sup>
	3 сутки				
	АМФ	76,30 $\pm$ 0,12 <sup>•</sup>	106,30 $\pm$ 0,15* <sup>•</sup>	180,80 $\pm$ 0,22* <sup>•</sup>	211,80 $\pm$ 0,17* <sup>•</sup>
	ПМФ	65,30 $\pm$ 0,13 <sup>•</sup>	115,30 $\pm$ 0,2* <sup>•</sup>	79,30 $\pm$ 0,21* <sup>•</sup>	74,30 $\pm$ 0,13* <sup>•</sup>
	5 сутки				
	АМФ	82,80 $\pm$ 0,15 <sup>•</sup>	89,30 $\pm$ 0,21 <sup>•</sup>	84,80 $\pm$ 0,12 <sup>•</sup>	121,80 $\pm$ 0,23* <sup>•</sup>
	ПМФ	120,30 $\pm$ 0,17 <sup>•</sup>	134,30 $\pm$ 0,31* <sup>•</sup>	111,80 $\pm$ 0,12 <sup>•</sup>	328,30 $\pm$ 0,28* <sup>•</sup>
	7 сутки				
	АМФ	94,30 $\pm$ 0,22 <sup>•</sup>	97,30 $\pm$ 0,25*	118,30 $\pm$ 0,17* <sup>•</sup>	771,80 $\pm$ 0,18* <sup>•</sup>
	ПМФ	154,30 $\pm$ 0,2 <sup>•</sup>	133,80 $\pm$ 0,21*	143,30 $\pm$ 0,42* <sup>•</sup>	133,30 $\pm$ 0,22* <sup>•</sup>
Содержание ФНО- $\alpha$ , пг/мл					
Контроль	АМФ	1,24 $\pm$ 0,22	1,32 $\pm$ 0,12	1,35 $\pm$ 0,17	1,60 $\pm$ 0,23
	ПМФ	1,20 $\pm$ 0,28	1,45 $\pm$ 0,23	2,30 $\pm$ 0,32	1,42 $\pm$ 0,15
Опыт	1 сутки				
	АМФ	1,48 $\pm$ 0,22	1,45 $\pm$ 0,12	1,80 $\pm$ 0,28	2,21 $\pm$ 0,30
	ПМФ	1,27 $\pm$ 0,27	1,55 $\pm$ 0,18	2,80 $\pm$ 0,23	3,00 $\pm$ 0,27
	3 сутки				
	АМФ	1,48 $\pm$ 0,15	1,51 $\pm$ 0,18	2,00 $\pm$ 0,20	1,79 $\pm$ 0,28
	ПМФ	1,48 $\pm$ 0,27	1,50 $\pm$ 0,22	1,43 $\pm$ 0,12	1,79 $\pm$ 0,17
	5 сутки				
	АМФ	2,19 $\pm$ 0,18	1,52 $\pm$ 0,30	1,50 $\pm$ 0,17	1,48 $\pm$ 0,22
	ПМФ	1,70 $\pm$ 0,17	1,85 $\pm$ 0,18	2,26 $\pm$ 0,25	1,94 $\pm$ 0,13
	7 сутки				
	АМФ	1,50 $\pm$ 0,21	1,50 $\pm$ 0,17	1,58 $\pm$ 0,28	1,65 $\pm$ 0,21
	ПМФ	1,34 $\pm$ 0,20	1,39 $\pm$ 0,15	1,32 $\pm$ 0,31	1,60 $\pm$ 0,25

Примечание –  $p \leq 0,05$  относительно: \* – показателя через 30 мин процесса фагоцитоза в этой же группе; <sup>•</sup> – контроля.

Таким образом, ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* оказывают влияние на содержание цитокинов в сыворотке крови лабораторных мышей.

При моделировании процесса фагоцитоза ЭПС термофильного стрептококка, по сравнению с ЭПС лактококка, оказывал более выраженное воздействие на синтез провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\alpha$ . Полученные результаты доказывают участие экзополисахаридов молочнокислых бактерий в регуляции цитокинового баланса, способствуя иммунному ответу при воспалительном процессе.

### **2.2.5. Влияние экзополисахарида *S. thermophilus* на физиологические показатели рыб**

В сельском хозяйстве ведется поиск способов повышения продуктивности животных, в том числе и рыб, основанный не только на применении биологически активных кормовых добавок с добавлением микроэлементов, аминокислот и витаминов [4, 77, 89], но и с возможным применением веществ бактериального синтеза, но этот вопрос еще не достаточно изучен [17, 94, 106]. В связи с этим представляет интерес изучение влияния экзополисахаридов на жизнедеятельность ленского осетра.

Исследования проводили в период с марта по июль 2020 г. Продолжительность эксперимента составила 15 недель. Рыбы (сеголетки, т.е. рыбы, вышедшие из икринок в текущем году) содержались в аквариумах вместимостью 250 л и были распределены на 2 группы: контрольная и опытная, со средней массой примерно 630 г.

При изучении влияния ЭПС *S. thermophilus* на организм ленского осетра для обеспечения наилучших условий для жизнедеятельности рыб, в том числе потребления кормов, поддерживали соответствующий оптимальной физиологической норме температурный режим (18-19 $^{\circ}$ C), уровень растворенного в воде кислорода (7 мг/л) и pH (6,5-7). Кормление ленского осетра в период опыта производили 3 раза в день, в светлое время суток, через равные промежутки времени. Диаметр гранул комбикорма равнялся 3 мм, а состав и питательность соответствовали данному периоду

выращивания рыбы. Особи контрольной группы получали полнорационный гранулированный продукционный комбикорм для осетров Supreme-10, «Correns», Нидерланды, а особи опытной группы получали тот же комбикорм с ЭПС из расчета 0,04 г/кг массы рыбы. Предварительными исследованиями по подбору концентраций оптимальной была определена концентрация равная 0,04 г/кг. В состав питательных веществ корма Supreme-10 входили: сырой протеин (49%), жир (10%), клетчатка 0,8%, зола (7,9%), общий фосфор (1,9%), комплекс витаминов А, D<sub>3</sub>, Е, С (30,4%).

Использование ЭПС *S. thermophilus* в рационе опытной группы сопровождалось увеличением интенсивности роста рыбы: прирост ихтиомассы был выше на 8,2 % по отношению к контрольной группе (Таблица 12).

Опытная группа опережала контроль по интенсивности роста и среднесуточному приросту на 3,9 % и 8,1 % соответственно.

Выживаемость во всех группах составила 100 %.

Таблица 12 – Основные показатели роста, развития и выживаемости ленского осетра

Показатель	Группа	
	контроль	опыт
Ихтиомасса в начале эксперимента, г	3200,0±15,00	3140,0±17,00*
Ихтиомасса в конце эксперимента, г	5140,0±25,00	5240,0±30,00*
Абсолютный прирост 1 особи за опыт, г	388,0±9,00	420,0±9,00*
Относительный прирост, %	48,5±1,00	52,4±1,00*
Среднесуточный прирост, г	3,7±0,09	4,0±0,08*
Выживаемость, %	100,0±0,00	100,0±0,00

Примечание – \* $p \leq 0,05$  относительно контроля.

Изучение биохимических показателей крови не выявило значительных различий между особями опытной и контрольной групп (Таблица 13).

Таблица 13 – Изучение влияния экзополисахарида *S. thermophilus* на биохимические показатели крови осетровых рыб

Показатель	Группа	
	контроль	опыт
Билирубин общий, мкмоль/л	6,5±0,6	8,5±0,8
Билирубин прямой, мкмоль/л	3,0±0,5	2,5±0,5
Аспаратаминотрансаминаза, ед./л	73,5±2,3	62,0±3,2*
Аланинаминотрансаминаза, ед./л	35,0±4,3	53,6±5,3
Белок общий, г/л	65,7±2,6	60,6±6,2
Креатинин, мкмоль/л	93,0±2,8	103,5±11,6
Глюкоза, ммоль/л	12,0±1,0	7,7±0,9
Щелочная фосфатаза, ед./л	56,8±3,5	66,5±3,0
Холестерин, ммоль/л	1,8±0,3	1,5±0,5
Натрий, ммоль/л	141,0±3,7	128,4±4,5

Примечание –  $p \leq 0,05$  \* относительно контроля.

Как видно из представленных данных разница была обнаружена только в отношении аспаратаминотрансферазы, активность которой у рыб опытной группы была достоверно ниже значений этого фермента у рыб контрольной группы, и натрия. Коэффициент де Ритиса был в пределах нормальных значений 1,3–1,75 [30] у подопытных групп, что свидетельствует о нормальной работе таких жизненно важных органов как печень и сердце рыб.

При изучении влияния экзополисахарида *S. thermophilus* на микрофлору кишечника осетровых рыб определяли КМАФАнМ и количество молочнокислых бактерий. Общая обсемененность в опытной группе рыб по окончании эксперимента была меньше, чем в контроле, а количество молочнокислых бактерий в 1,9 раза больше (Таблица 14).

Таблица 14 – Влияние ЭПС *S. thermophilus* на микрофлору кишечника осетровых рыб

Количество бактерий, КОЕ/см <sup>3</sup>	Группа	
	Контроль	Опыт
КМАФАнМ	$3,0 \cdot 10^6 \pm 0,6$	$1,1 \cdot 10^6 \pm 0,2^*$
Молочнокислые бактерии	$1,5 \cdot 10^5 \pm 0,5$	$2,8 \cdot 10^5 \pm 0,5^*$

Примечание:  $p \leq 0,05$  \* относительно контроля.

Полученные результаты хорошо коррелируют с литературными данными других исследователей о влиянии ЭПС молочнокислых бактерий на организм животных. Так, согласно работам Н.А. Фокиной с соавт. [105], добавление в корм цыплятам ЭПС *S. thermophilus* увеличивало их массу тела на 8,2% и повышало число молочнокислых бактерий в кишечнике птиц на 33,3% по сравнению с контролем. В работах М.И. Правдивцевой [80] установлено стимулирующее влияние ЭПС *L. delbrueckii* и *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* на рост молочнокислых бактерий и подавляющее действие данных ЭПС на количество кишечной палочки и стафилококков в толстом кишечнике крыс.

Чтобы оценить влияние экзополисахарида *S. thermophilus* на интенсивность потребления кормов и их усвояемость ленским осетром была проведена оценка некоторых показателей (ихтиомассы рыбы в конце опыта, прироста ихтиомассы за опыт, а также затрат корма на группу и на 1 кг прироста) (Таблица 15).

Таблица 15 – Затраты корма для выращивания ленского осетра

Показатель	Группа	
	контроль	опыт
Ихтиомасса рыбы в конце опыта, кг	5,14±0,02	5,24±0,04*
Прирост ихтиомассы за опыт, кг	1,94±0,01	2,10±0,02*
Затраты корма на группу, кг	2,79±0,01	2,77±0,02
Затраты корма, на 1 кг прироста, кг	1,44±0,01	1,32±0,01*

Примечание –  $p \leq 0,05$  \* относительно контроля.

Как видно из результатов, представленных в таблице 15, затраты корма на 1 кг прироста в опытной группе были ниже на 0,12 кг, что свидетельствует об экономической эффективности выращивания ленского осетра с использованием в кормлении экзополисахарида *S. thermophilus*.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что использование ЭПС *S. thermophilus* в рационе ленского осетра способствует увеличению массы рыб, не оказывая негативного влияния на физиологическое состояние рыб, и уменьшению затрат кормов при их выращивании.

#### **2.2.6. Влияние экзополисахарида *S. thermophilus* на органолептические показатели рыбы**

В процессе дальнейших исследований были определены органолептические показатели мяса и бульона осетровой рыбы (опытной и контрольной групп). Оценку проводили по 5-ти бальной системе. У мяса рыб определяли внешний вид, цвет, консистенцию, вкус и запах (Таблица 16). У бульона учитывали внешний вид прозрачность, цвет, вкус и запах (Таблица 17).

Таблица 16 – Критерии оценки бульона из мяса осетровой рыбы

Органолептические показатели	Баллы (5-1), характеристика				
	5	4	3	2	1
Внешний вид (прозрачность)	однородная жидкость, без взвешенных частиц, прозрачный	наличие мелких хлопьев (легкая опалесценция)	легкая муть	мутный	сильная муть, с хлопьями свернувшегося белка, на поверхности вспенивание
Вкус	бульон с привкусом корней, специй, умеренно-соленый	без изменений	без привкуса корней, специй, недосоленный	пересолен, водянистый	осалившегося жира, прокисшего бульона
Запах	приятный, экстрактивных веществ рыбного бульона, аромат корней, специй	без изменений	кореньев, специй отсутствует	слабый или неароматный	затхлой рыбы, прокисания, резко соленый
Цвет	прозрачный, светлый	светло-коричневый	светло-серый	с серым оттенком	темный с серым оттенком

Таблица 17 – Критерии оценки мяса осетровой рыбы

Органолептические Показатели	Баллы (5-1), характеристика				
	5	4	3	2	1
Внешний вид	рыба в виде целого сваренного куска	куски рыбы нарезаны аккуратно, но местами с бахромкой	разделка рыбы неправильная	куски деформированы	брюшная полость рыбы плохо зачищена (сгустки крови, черная пленка), оставлены плавники, поверхность ослизлая
Консистенция	мягкая, допускаются легкое расслаивание	слегка крошащаяся	сухая	дряблая (рыба сильно переварена) или крупитчатая	рыбы – плотная (недоварена) или сильно сухая

## Продолжение таблицы 17

Запах	рыбный с ароматом специй	без изменений	рыбы, не смягченной кореньями и специями	посторонний	посторонний, порочащий, прокисшего блюда
Вкус	рыбы	без изменений	несоленая	холодное	пересоленный, с привкусом окислившегося жира, недоброкачественной рыбы, посторонний
Цвет	мяса рыбы в разрезе – белый или светло-серый	без изменений	слегка темный (незначительное заветривание)	поверхности кусков – темный с заветриванием	с желтоватым оттенком (окислившегося жира)

Как видно из результатов эксперимента (Таблица 18), разницы по вкусовым качествам бульонов практически не было выявлено, а вот отварное мясо рыб опытной группы было вкуснее и плотнее по консистенции мяса рыб контрольной группы.

Таблица 18 – Результаты органолептической оценки рыбного бульона и осетра отварного

Наименование образцов	Органолептическая оценка, средний балл	
	Бульон рыбный	Осетр отварной
Контроль	4,62±0,09	4,22±0,18
Опыт	4,52±0,06	4,72±0,13*

Примечание – \* $p \leq 0,05$  относительно контроля.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что использование ЭПС *S. thermophilus* в рационе ленского осетра способствует

улучшению органолептических показателей (вкуса и консистенции) рыбного мяса.

### **2.2.7. Создание и характеристика пленочных покрытий, созданных на основе экзополисахаридов *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus***

Имеются сведения о том, что полисахариды микробного происхождения, такие как ксантан, геллановая камедь, хитозан, применяют для создания пленочных покрытий, которые используются в пищевой и перерабатывающей промышленности для сохранения овощей, фруктов, мяса, хлебобулочных изделий, в сельском хозяйстве и т.д. [72-74]. В литературе встречаются немногочисленные работы об использовании полисахаридов при создании раневых пленочных покрытий, однако они касаются, в основном, ЭПС грибов [79], водорослей [175]. Есть публикации и о пленочных покрытиях, созданных на основе ЭПС молочнокислых бактерий – *Lactobacillus delbrueckii*, обладающие антимикробными и ранозаживляющими свойствами [80]. Однако работ о создании пленочных покрытий с использованием ЭПС молочнокислых кокков в доступной литературе не обнаружено. С целью расширения области применения подобных пленочных покрытий были разработаны образцы пленочных покрытий для последующего применения их в заживлении ожоговых ран у животных.

Для создания пленочных покрытий на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* в качестве основы использовали водный раствор ЭПС (0,06 г/л) *L. lactis* В-1662 или *S. thermophilus*, в качестве структурообразователя – карбоксиметилцеллюлозу (КМЦ) (15 г/л) («Fluka», Швейцария). Полученные растворы ЭПС и КМЦ объединяли и перемешивали до полного растворения образовавшихся сгустков. Смесь помещали в термостат (38°C) на 2-3 минуты, затем для прочности добавляли пластификатор (глицерин) и получившуюся смесь распределяли на подложке из стекла. Формирование

пленочных покрытий происходило в течение 20 – 24 часов при комнатной температуре (18 – 25 °С). Нами было рассмотрено несколько вариантов состава пленочных покрытий с различным соотношением ЭПС и КМЦ (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 2:1, 3:1, 4:1 соответственно) и 0,5 частью глицерина. Только при соотношении 1:1:0,5 получали однородный, прозрачный, студнеобразный гель, который, застывая, образовывал прозрачную пленку, легко отделяющуюся от стекла. При других соотношениях компонентов пленка была мутной, рыхлой, долгозастывающей.

Важными показателями качества любого пленочного покрытия является прочность, растяжимость и толщина, вязкость. Испытания по определению этих показателей проводили при температуре воздуха 22°С и относительной влажности воздуха 65%.

Определение показателей прочности и растяжимости пленочных покрытий на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* проводили на приборе «СТЗ 4500 Brookfield», США. Для этого на стеклянную колбу шириной 40 мм прибора анализатора натягивали исследуемый образец и на него опускали поршень со скоростью 2 мм/с. По мере опускания поршня прибор записывал показания прилагаемой нагрузки на образец и степень растяжения пленки до момента разрыва. Толщину пленочных покрытий определяли толщинометром Roadweller RW-ТМ-05, Китай.

Было установлено, что созданные нами пленочные покрытия обладают примерно такими же прочностными характеристиками, что и применяемая в пищевой промышленности полиэтиленовая пленка [26], взятая нами в качестве контроля. Причем, по прочности оба созданных покрытия в 6,5 раз превосходили пленочное покрытие на основе ксантана и хитозана [74]. Также оба покрытия по показателям растяжимости в 1,5 и 2,7 раза превосходили пищевую полиэтиленовую пленку и пищевое пленочное покрытие на основе ксантана и хитозана [74] соответственно. Однако определение толщины пленочных покрытий показало, что пленочные покрытия на основе ЭПС

молочнокислых бактерий *L. lactis* В-1662 и *S.thermophilus* были толще, чем пищевая полиэтиленовая пленка и пищевое пленочное покрытие на основе ксантана и хитозана. То есть, при сравнении с пленочным покрытием для пищевых продуктов, созданным на основе других полисахаридов – ксантана и хитозана, пленочные покрытия на основе ЭПС молочнокислых бактерий обладали значительным преимуществом по прочности и растяжимости.

Таблица 19 – Результаты растяжимости, прочности, толщины образцов

Образцы	Прочность	Растяжимость	Толщина
Пленочное покрытие ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	21,130 Па	34,870 мм	1,700 мм
Пленочное покрытие <i>S. thermophilus</i>	21,080 Па	33,950 мм	1,700 мм
Полиэтиленовая пленка, «Золушка», Россия	22,010 Па	21,850 мм	0,040 мм
Пищевая полиэтиленовая пленка (ГОСТ)	12,700 – 23,400 Па	10 – 36 мм	0,015 – 0,500 мм
Пленочное покрытие на основе ксантана и хитозана для пищевых продуктов [74]	3,28 Па	12,48 мм	0,012 мм

Далее была определена динамическая вязкость созданных пленочных покрытий, которая составила 550 мПа·с для пленочного покрытия на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и 520 мПа·с для пленочного покрытия на основе ЭПС *S. thermophilus*. Вязкость была в 2 раза ниже по сравнению с пленочным покрытием на основе ксантана и хитозана [74], что, возможно, объясняется

низкой вязкостью самих растворов ЭПС, близкой к вязкости воды [105, 106]. Известно, что вязкость является критерием прочности пленочного покрытия: чем выше вязкость, тем выше прочность пленочного покрытия [175], однако, низкая вязкость созданных пленочных покрытий в данном случае не повлияла на их прочность и растяжимость.

Таким образом, созданные на основе ЭПС молочнокислых кокков пленочные покрытия характеризуются хорошей прочностью и растяжимостью.

#### **2.2.8. Влияние пленочных покрытий, созданных на основе экзополисахаридов *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*, на заживление ожогов у крыс**

С целью поиска возможного применения ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* были созданы на их основе пленочные покрытия и изучены их ранозаживляющие свойства на примере ожогов степени IIIa у крыс. Крысы были разделены на 7 групп. Контрольные: 1 группа – интактные животные; 2 группа – животные, у которых вызывали ожог; 3 группа – животные, у которых вызывали ожог и после ожога наносили коммерческий препарат 5% декспантенол («Пантодерм», АО «АКРИХИН», Россия); опытные: 4 группа – животные с ожоговой раной, на которую наносили пленочное покрытие, созданное на основе ЭПС *L. lactis* В-1662; 5 группа – животные с ожоговой раной, на которую наносили пленочное покрытие, созданное на основе ЭПС *S. thermophilus*; 6 группа – раствор ЭПС *L. lactis* В-1662 и 7 группа – раствор ЭПС *S. thermophilus* в концентрации 0,06 г/л.

Было установлено, что динамика заживления ожоговых ран контрольных (2 и 3) и опытных групп (4 и 5) животных отличалась. В контрольной группе (2) животных на 1 сутки на месте ожога наблюдали сухую темно-красного цвета корку с ровными краями. На протяжении всего эксперимента цвет и форма корки (струпа) не изменялись, уменьшалась

только их площадь, начиная с 10 суток (Таблица 20), отделения струпа от поверхности кожи не происходило. Полное заживление ожоговой раны и восстановление шерстного покрова наблюдали только на 28 сутки (Рисунок 2).

Таблица 20 – Влияние пленочных покрытий, созданных на основе ЭПС молочнокислых бактерий, на заживление ожогов у крыс

Время, сутки	Группы			
	2	3	4	5
	Контроль		Опыт	
	ожог	ожог + 5% декспантенол	ожог + пленочное покрытие с ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	ожог + пленочное покрытие с ЭПС <i>S. thermophilus</i>
	Площадь раны, см <sup>2</sup>			
1	2,80±0,30	2,40±0,20	2,20±0,30	1,60±0,40 *
3	3,00±0,50	3,00±0,20	1,90±0,17 *•	1,40±0,30 *
5	2,40±0,30	2,60±0,30	1,70±0,10 *•	1,20±0,30*•
7	2,10±0,20 •	2,50±0,20	1,50±0,30 *•	1,00±0,20 *•
10	1,90±0,05•	2,20±0,40	1,40±0,05 *•	0,90±0,20 *•
14	1,70±0,08 •	0,4±0,06*•	0,50±0,02•	0,20±0,03 *•
21	0,10±0,03•	0,1±0,02 •	0,01±0,002•	-
23	0,10±0,02 •	0,1±0,01 •	-	-
25	0,10±0,01 •	-	-	-
28	-	-	-	-

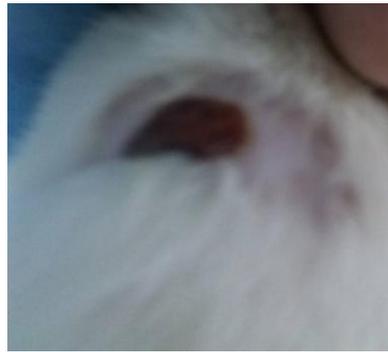
Примечание – 1 группа – интактные животные.

$p \leq 0,05$  относительно: \* показателя в группе «ожог» в тот же срок;

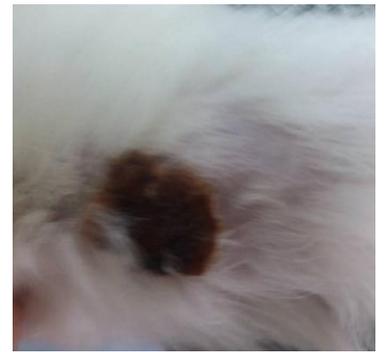
• – показателя в первые сутки в этой же группе; «-» – отсутствие раны.



1 сутки



3 сутки



5 сутки



7 сутки



10 сутки



14 сутки



21 сутки



28 сутки

Рисунок 2 – Процесс заживления ожоговой раны 2 группы крыс (без лечения)

У крыс 3 группы в 1 сутки происходило образование такой же корки, как у животных в группе 2. У этих крыс, чьи ожоги обрабатывали декспантенолом, площадь струпа начинала уменьшаться с 14 суток и его отшелушивания до конца эксперимента не происходило. Полное заживление раны наблюдали к 25 суткам, а шерстный покров полностью восстанавливался лишь к 28 суткам (Рисунок 3).

У крыс, которым в ходе эксперимента на рану наносили гель, созданный на основе ЭПС лактококка, который по мере застывания образовывал пленочное покрытие (группа 4), на 1 сутки эксперимента наблюдали образование сухой корки на поверхности раны желто-бурого цвета (Рисунок 4). На 5 сутки корка начинала шелушиться и отслаиваться от кожи. К 7 суткам корка светлела и еще больше отслаивалась. На 14 сутки корка частично отделялась от поверхности кожи. К 21 суткам происходило практически полное заживление раны, о чем судили по площади ожога ( $0,01 \pm 0,002$ ), которая была в 10 раз меньше, чем к этому времени в 1 группе животных (Таблица 20). По истечении 21 суток наблюдали бурого цвета царапины и частичное восстановление шерстного покрова. Полное заживление кожи было отмечено на 23 сутки, а полное восстановление шерстного покрова происходило на 25 сутки.



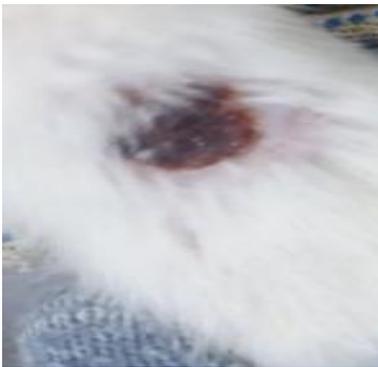
1 сутки



3 сутки



5 сутки



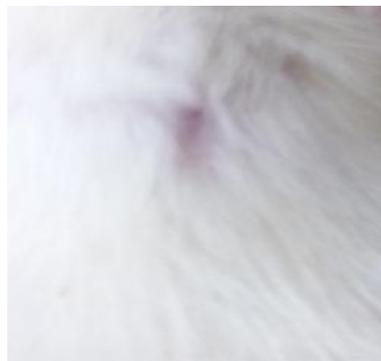
7 сутки



10 сутки



14 сутки



23 сутки



25 сутки

Рисунок 3 – Влияние 5 % декспантенола на процесс заживления ожоговых ран у крыс



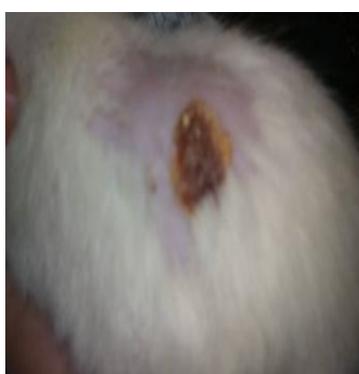
1 сутки



3 сутки



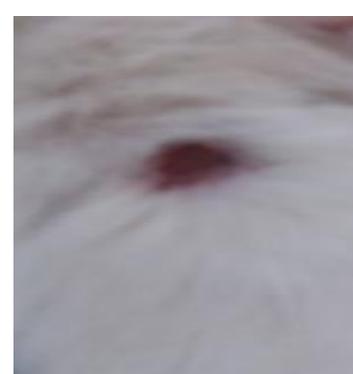
5 сутки



7 сутки



10 сутки



14 сутки



21 сутки



25 сутки

Рисунок 4 – Влияние пленочного покрытия, созданного на основе ЭПС *L. lactis* В-1662, на заживление ожоговых ран у крыс

При применении для обработки ожога пленочного покрытия, созданного на основе ЭПС стрептококка, у животных 5 группы, также как и у животных 4 группы, через сутки на поверхности раны наблюдали образование сухой корки желто-бурого цвета (Рисунок 5). Однако было замечено, что заживление ран у данной группы животных, в отличие от крыс 4 группы, начиналось уже с первых суток, корка была меньшего размера (Таблица 20). На 5 сутки корка еще больше светлела и начинала отделяться от поверхности кожи. На 14 сутки у крыс данной группы, как и в группе 4, струп частично отделялся. На 21 сутки на месте раны отмечали лишь небольшое покраснение кожи и практически полное восстановление шерстного покрова.

Нагноения ран ни в одной группе животных не наблюдали. За время наблюдения у животных всех групп нарушений функций пищеварения и мочеотделения отмечено не было, гибели крыс в ходе эксперимента также не установлено.

Предыдущим исследованием было показано заживление ожогов растворами ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* с полным восстановлением кожно-шерстного покрова на 23 сутки, что на 5 и 2 дня раньше групп без лечения и с применением 5% декспантенола соответственно [105].

Таким образом, пленочные покрытия, созданные на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*, способствовали в разной мере заживлению ожогов степени IIIа у крыс и восстановлению кожно-шерстного покрова в более ранние сроки по сравнению с животными без лечения и с применением 5% декспантенола. Наибольший регенерирующий эффект выявлен у пленочного покрытия, созданного на основе ЭПС стрептококка: кожно-шерстный покров был восстановлен на 7 и 4 суток раньше по сравнению с контрольными группами без лечения и с применением 5% декспантенола, и на 2 суток относительно групп, где применяли растворы ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочное покрытие на основе ЭПС *L. lactis* В-1662.

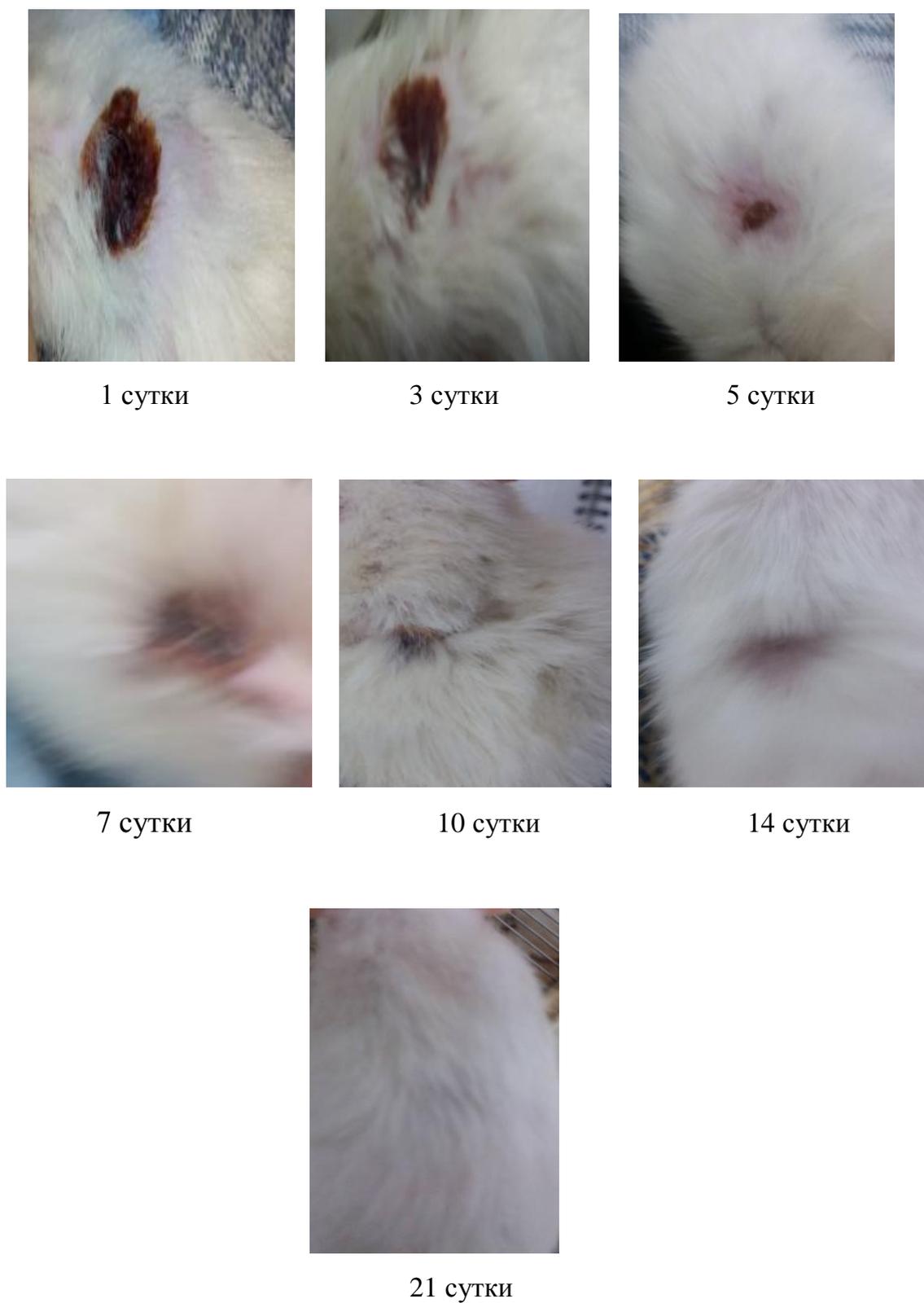


Рисунок 5 – Влияние пленочного покрытия, созданного на основе ЭПС *S. thermophilus*, на заживление ожоговых ран у крыс

### **2.2.9. Влияние экзополисахаридов молочнокислых бактерий и пленочных покрытий, созданных на их основе, на микрофлору ожогов у крыс**

В процессе исследований смывов с ожоговой поверхности, как видно из таблицы 21, значительных изменений микрофлоры при изучении количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) у животных большинства групп не происходило. За исключением животных 5 и 7 групп, раны которых обрабатывали ЭПС *S. thermophilus* и пленочным покрытием на его основе, у которых к моменту заживления раны количество КМАФАнМ было в 1,2 раза меньше (в обеих группах) по сравнению с другими группами крыс. Небольшое увеличение КМАФАнМ наблюдали во 2, 3, 4, 5, 6 и 7 группах животных, в период, начиная с 3 по 21 сутки, возможно, это объясняется разгаром инфекционного процесса. На 21 сутки происходило снижение количества микроорганизмов в 4, 5, 6 и 7 группах по сравнению с группой 3, где для лечения применяли 5% декспантенол, а на 28 сутки число микроорганизмов во всех группах было сопоставимо с интактной группой животных.

При определении бактерий группы кишечной палочки, как видно из таблицы 22, было обнаружено их уменьшение в группе крыс с ожогом (2 группа) по сравнению с интактными животными (1 группа). У крыс 4, 5, 6 и 7 групп животных, обработанных ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочными покрытиями на их основе, происходило значительное их уменьшение по сравнению с 1, 2 и 3 группами – 10 раз, при этом наиболее выраженный эффект проявил ЭПС *S. thermophilus* и пленочное покрытие на его основе.

Таблица 21 – Влияние ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочных покрытий на их основе на количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов на поверхности ожогов у крыс (КОЕ/мл)

Время, сутки	Группы животных						
	1	2	3	4	5	6	7
	Контроль			Опыт			
	без ожога (интактная)	с ожогом	ожог + декспантенол	ожог + пленочное покрытие с ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	ожог + пленочное покрытие с ЭПС <i>S. thermophilus</i>	ожог + ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	ожог + ЭПС <i>S. thermophilus</i>
1	$(2,50 \pm 0,20) \times 10^5$	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(3,50 \pm 0,22) \times 10^{5*}$	$(2,50 \pm 0,20) \times 10^{5*}$	$(2,50 \pm 0,18) \times 10^5$	$(2,50 \pm 0,29) \times 10^5$	$(2,50 \pm 0,24) \times 10^5$
3	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(3,00 \pm 0,12) \times 10^5$	$(4,50 \pm 0,26) \times 10^{5*•}$	$(3,50 \pm 0,20) \times 10^{5*}$	$(3,00 \pm 0,20) \times 10^5$	$(3,00 \pm 0,16) \times 10^5$	$(2,50 \pm 0,22) \times 10^5$
5	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(4,00 \pm 0,21) \times 10^{5*•}$	$(6,00 \pm 0,33) \times 10^{5*•}$	$(4,50 \pm 0,24) \times 10^{5*•}$	$(3,50 \pm 0,20) \times 10^{5*•}$	$(4,00 \pm 0,24) \times 10^{5*•}$	$(3,00 \pm 0,29) \times 10^{5*•}$
7	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(6,00 \pm 0,25) \times 10^{5*•}$	$(7,00 \pm 0,24) \times 10^{5*•}$	$(5,50 \pm 0,17) \times 10^{5*•}$	$(5,00 \pm 0,2) \times 10^{5*•}$	$(5,00 \pm 0,21) \times 10^{5*•}$	$(4,00 \pm 0,22) \times 10^{5*•}$
10	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(5,00 \pm 0,13) \times 10^{5*•}$	$(6,00 \pm 0,21) \times 10^{5*•}$	$(5,00 \pm 0,20) \times 10^{5*•}$	$(5,00 \pm 0,10) \times 10^{5*•}$	$(5,00 \pm 0,21) \times 10^{5*•}$	$(4,00 \pm 0,22) \times 10^{5*•}$
14	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(4,00 \pm 0,17) \times 10^{5*•}$	$(5,00 \pm 0,24) \times 10^{5*•}$	$(4,50 \pm 0,20) \times 10^{5*•}$	$(4,00 \pm 0,20) \times 10^{5*•}$	$(5,00 \pm 0,26) \times 10^{5*•}$	$(4,00 \pm 0,37) \times 10^{5*•}$
21	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(2,50 \pm 0,12) \times 10^5$	$(4,00 \pm 0,13) \times 10^{5*•}$	$(3,00 \pm 0,17) \times 10^{5*}$	$(3,00 \pm 0,20) \times 10^5$	$(2,50 \pm 0,11) \times 10^5$	$(2,00 \pm 0,13) \times 10^5$
28	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^{5*}$	$(2,50 \pm 0,19) \times 10^{5*}$	$(2,00 \pm 0,16) \times 10^5$	$(2,50 \pm 0,21) \times 10^5$	$(2,00 \pm 0,21) \times 10^5$

Примечание –  $p \leq 0,05$  относительно контроля: \*показателя в группе «ожог» в тот же срок;

• относительно контроля (1 группы).

Таблица 22 – Влияние ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочных покрытий на их основе на количество бактерий группы кишечной палочки на поверхности ожогов у крыс (КОЕ/мл)

Время, сутки	Группы						
	Контроль			Опыт			
	1	2	3	4	5	6	7
	контроль без ожога (интактная)	с ожогом	ожог + 5% декспантенол	ожог + пленочное покрытие с ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	ожог + пленочное покрытие с ЭПС <i>S. thermophilus</i>	ожог + ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	ожог + ЭПС <i>S. thermophilus</i>
1	$(2,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,20) \times 10^3$
3	$(2,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(3,00 \pm 0,12) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,26) \times 10^4$ •	$(4,00 \pm 0,21) \times 10^3$	$(3,00 \pm 0,22) \times 10^3$ *	$(3,00 \pm 0,21) \times 10^3$	$(2,00 \pm 0,22) \times 10^3$ *
5	$(2,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(4,00 \pm 0,21) \times 10^3$	$(2,00 \pm 0,33) \times 10^4$ •	$(3,00 \pm 0,20) \times 10^3$ *	$(2,00 \pm 0,29) \times 10^3$ *	$(2,00 \pm 0,20) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,29) \times 10^3$ *
7	$(2,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,25) \times 10^4$ •	$(2,00 \pm 0,24) \times 10^4$ •	$(3,00 \pm 0,25) \times 10^3$ *	$(2,00 \pm 0,22) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,25) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,22) \times 10^3$ *
10	$(2,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,13) \times 10^4$ •	$(1,00 \pm 0,21) \times 10^4$ •	$(2,00 \pm 0,21) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,22) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,21) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,22) \times 10^3$ *
14	$(2,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,17) \times 10^4$ •	$(1,00 \pm 0,24) \times 10^4$ •	$(2,00 \pm 0,17) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,37) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,17) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,37) \times 10^3$ *
21	$(2,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,20) \times 10^4$ •	$(1,00 \pm 0,13) \times 10^4$ •	$(1,00 \pm 0,12) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,13) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,12) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,13) \times 10^3$ *
28	$(2,00 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,00 \pm 0,12) \times 10^4$ •	$(1,00 \pm 0,13) \times 10^4$ •	$(1,00 \pm 0,12) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,13) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,12) \times 10^3$ *	$(1,00 \pm 0,13) \times 10^3$ *

Примечание –  $p \leq 0,05$  \* показателя в группе «ожог» в тот же срок, • относительно контроля (1 группы).

Таблица 23 – Влияние ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочных покрытий на их основе на количество стафилококков на поверхности ожогов у крыс (КОЕ/мл)

Время, сутки	Группы						
	Контроль			Опыт			
	1	2	3	4	5	6	7
	контроль без ожога (интактная)	с ожогом	ожог + 5% декспантенол	ожог + пленочное покрытие с ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	ожог + пленочное покрытие с ЭПС <i>S. thermophilus</i>	ожог + ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	ожог + ЭПС <i>S. thermophilus</i>
1	(1,00±0,20) x10 <sup>5</sup>	(1,00±0,20) x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,20) x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,20)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,20)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,20)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,22)x10 <sup>3*</sup>
3	(1,00±0,12) x10 <sup>5</sup>	(2,00±0,12) x10 <sup>5*</sup>	(3,00±0,24) x10 <sup>5*</sup>	(3,00±0,21)x10 <sup>4*</sup>	(3,00±0,12)x10 <sup>4*</sup>	(2,00±0,21)x10 <sup>4*</sup>	(2,00±0,12)x10 <sup>4*</sup>
5	(1,00±0,21) x10 <sup>5</sup>	(3,00±0,21) x10 <sup>5*</sup>	(4,00±0,21) x10 <sup>5*</sup>	(5,00±0,20)x10 <sup>4*</sup>	(4,00±0,20)x10 <sup>4*</sup>	(4,00±0,20)x10 <sup>4*</sup>	(3,00±0,20)x10 <sup>4*</sup>
7	(1,00±0,25) x10 <sup>5</sup>	(5,00±0,25) x10 <sup>5*</sup>	(6,00±0,25) x10 <sup>5*</sup>	(5,00±0,25)x10 <sup>4*</sup>	(3,00±0,27)x10 <sup>4*</sup>	(2,00±0,25)x10 <sup>4*</sup>	(1,00±0,27)x10 <sup>4*</sup>
10	(1,00±0,13) x10 <sup>5</sup>	(4,00±0,13) x10 <sup>5*</sup>	(5,00±0,13) x10 <sup>5*</sup>	(3,00±0,21)x10 <sup>4*</sup>	(1,00±0,21)x10 <sup>4*</sup>	(2,00±0,21)x10 <sup>4*</sup>	(1,00±0,21)x10 <sup>3*</sup>
14	(1,00±0,17) x10 <sup>5</sup>	(3,00±0,17) x10 <sup>5*</sup>	(4,00±0,24) x10 <sup>5*</sup>	(1,00±0,17)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,15)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,17)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,15)x10 <sup>3*</sup>
21	(1,00±0,12) x10 <sup>5</sup>	(2,00±0,12) x10 <sup>5*</sup>	(3,00±0,13) x10 <sup>5*</sup>	(1,00±0,12)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,20)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,12)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,20)x10 <sup>3*</sup>
28	(1,00±0,12) x10 <sup>5</sup>	(2,00±0,12) x10 <sup>5*</sup>	(2,00±0,13) x10 <sup>5*</sup>	(1,00±0,12)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,12)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,12)x10 <sup>3*</sup>	(1,00±0,12)x10 <sup>3*</sup>

Примечание –  $p \leq 0,05$  \*относительно контроля (2 группы), • относительно контроля (1 группы).

При определении стафилококков на поверхности ожогов во 2 группе животных по сравнению с интактными животными было отмечено небольшое увеличение числа бактерий (Таблица 23). В 3 группе животных количество стафилококков было практически идентично количеству бактерий во 2 группе, однако достоверно больше, чем у крыс группы 1.

В группах крыс 4, 5, 6 и 7, обработанных раствором ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочными покрытиями на их основе, было обнаружено значительное снижение числа стафилококков (в 200 раз) по сравнению с 2 группой животных и с 3 группой крыс, леченных коммерческим препаратом 5% декспантенолом. Нагноения ран ни в одной группе крыс не происходило.

Таким образом, наилучший эффект в подавлении условно-патогенной микрофлоры ожогов проявил ЭПС *S. thermophilus*, который способствовал уменьшению числа бактерий группы кишечной палочки и стафилококков в 10 и 200 раз соответственно по сравнению контролем и на 3 суток раньше, чем раствор ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочные покрытия на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*.

#### **2.2.10. Влияние экзополисахаридов *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочных покрытий, созданных на их основе, на состав лейкоцитов крови крыс при моделировании ожогов**

Изучение функциональной активности лейкоцитов в ответ на действие ЭПС продиктовано стремлением подойти к раскрытию механизмов действия ЭПС на живой организм, поскольку, как известно, лейкоциты крови вовлечены в иммунные процессы [75, 110].

Изучение проводили на крысах, которых разделяли на 7 групп: 1 группа – интактные животные (без ожога), 2 группа – животные, у которых вызывали ожог, 3 группа – животные, у которых вызывали ожог и после ожога наносили коммерческий препарат 5% декспантенол, 4 группа – опытные животные, которым после ожога наносили пленочное покрытие на

основе ЭПС *L. lactis* В-1662, 5 группа – опытные животные, которым после ожога наносили пленочное покрытие на основе ЭПС *S. thermophilus*, 6 и 7 группы – животные, для лечения которых применяли растворы ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* соответственно.

Влияние 5% декспантенола, ЭПС и пленочных покрытий, созданных на их основе, на кроветворную функцию отмечалось с самого начала после моделирования ожога и обработки крыс: так, уже с 1 суток отмечалось значительное увеличение количества нейтрофилов – реактивная нейтрофилия (регенеративный сдвиг ядра влево), частой причиной которого являются бактериальные инфекции, сопровождающие ранения, в том числе и ожоги, – во всех группах, чуть более выраженный эффект наблюдали во 2 контрольной группе с ожогом без лечения (Таблица 24). Высокий нейтрофильный лейкоцитоз при воспалительных заболеваниях развивается при воздействии на костный мозг интерлейкинов, в том числе ИЛ-1 [110], продукция которых, как было нами ранее установлено, увеличивается под действием ЭПС. Наличие юных нейтрофилов в 1 – 10 сутки в группах, где применяли 5% декспантенол, ЭПС и пленочные покрытия, созданные на их основе, свидетельствует об усилении их продукции костным мозгом, как самый первый ответ на бактериальные инфекции.

На 14 сутки во всех группах с лечением (3 – 7) наблюдали снижение уровня нейтрофилов до значений интактной группы, что свидетельствовало об окончании воспалительного процесса, поскольку сегментоядерные нейтрофилы, будучи микрофагами, играют роль в защите организма от бактериальных инфекций – спутников ожоговых ранений [21, 23, 54, 85, 111, 113]. В группе с ожогом без лечения подобный эффект наблюдали только на 28 сутки.

При определении эозинофилов в 1 сутки наблюдали резкое понижение их числа (относительная анэозинопения) в 2 – 7 группах. Через 7 суток их число возрастало в группах 5 (ожог + ПЛ на основе ЭПС *S. thermophilus*) и 7

(ожог + ЭПС *S. thermophilus*), как и число моноцитов, а через 10 суток их количество увеличивалось и в 3, 4, 6 группах, во 2 группе без лечения – только на 14 сутки. Главная задача моноцитов и нейтрофилов заключается в защите организма от микробов и злокачественных клеток, удалении чужеродных и отмерших частиц, за счет выделения протеолитических ферментов, адсорбции на своей поверхности и переносе веществ, обезвреживающих микроорганизмы [57, 111, 113]. Можно предположить, что именно за счет такой вызываемой реакции – увеличения моноцитов и эозинофилов – изучаемые ЭПС проявляют антимикробную активность. Из литературы известно, что эозинофилия характерна при ожоговой болезни [111]. Повышение числа эозинофилов подтверждается данными, полученными нами ранее об увеличении числа макрофагов под действием изучаемых ЭПС. Наиболее выраженное влияние на увеличение доли эозинофилов и моноцитов оказал ЭПС *S. thermophilus*.

При определении концентрации лимфоцитов отмечали их снижение в крови крыс сразу же в 1 сутки после моделирования ожога. Их число начинало восстанавливаться через 3 суток во всех группах. В группах с лечением 3, 4, 5, 6, 7 число лимфоцитов достигло физиологической нормы на 10 сутки по сравнению с группой 2, где их число нормализовалось только к 14 суткам.

В группах крыс (3, 4, 5, 6, 7) с применением исследуемых бактериальных ЭПС, пленочных покрытий на их основе и коммерческого препарата 5% декспантенол процентное содержание лейкоцитов восстановилось до физиологической нормы раньше (через 10 суток), чем в группе 2 без лечения, где их число нормализовалось только к 14 суткам.

Изменений в морфологии лейкоцитов крови животных 4, 5, 6 и 7 групп по сравнению с показателями животных в 1, 2, 3 группах на протяжении эксперимента установлено не было. Изменений в морфологическом составе крови животных опытных групп по сравнению с

показателями животных в контроле на протяжении эксперимента установлено не было.

Таким образом, результаты лейкограммы свидетельствуют о том, что ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*, а также пленочные покрытия, созданные на их основе, способствуют нормальному (не патологическому) течению процесса и благоприятному исходу заживления ожоговых ран при отсутствии осложнений.

Наиболее выраженный эффект исследуемые ЭПС и пленочные покрытия оказывали на эозинофилы, моноциты, сегментоядерные нейтрофилы и лимфоциты по сравнению с ожоговой группой без лечения, при этом практически идентичную картину наблюдали и в группе животных, где для лечения использовали 5% декспантенол. Наблюдаемые в ходе эксперимента лимфоцитоз, повышение уровня нейтрофилов, характерны для ожоговых ранений, сопровождающихся бактериальными инфекциями. Результаты исследования свидетельствуют о том, что ЭПС активируют механизмы неспецифической сопротивляемости организма и не являются аллергенами, поскольку не развилась эозинофилия, и они не токсичны: в форменных элементах белой крови отсутствовали типичные для патологии морфологические изменения. Известно, что такой ЭПС бактериального происхождения как глюкан [166] также способствует заживлению ран, при этом раны показали большее количество макрофагов на ранней воспалительной стадии заживления с меньшим количеством полиморфноядерных нейтрофильных лейкоцитов, чем в контрольных ранах.

Таблица 24 – Воздействие экзополисахаридов молочнокислых бактерий при заживлении ожогов на лейкограмму крыс

Группы	Формы лейкоцитов	Время, сутки							
		1	3	5	7	10	14	21	28
		Содержание лейкоцитов, %							
1 - без ожога (интактная)	Эозинофилы	4,0±0,3	-	-	-	-	-	-	-
	Нейтрофилы юные	0	-	-	-	-	-	-	-
	Нейтрофилы палочкоядерные	2,0±0,5	-	-	-	-	-	-	-
	Нейтрофилы сегментоядерные	28,0±0,8	-	-	-	-	-	-	-
	Лимфоциты	65,0±0,8	-	-	-	-	-	-	-
	Моноциты	1,0±0,3	-	-	-	-	-	-	-
2 – с ожогом	Эозинофилы	1,0±0,3▪	1,0±0,2	1,0±0,2	2,0±0,2*	2,0±0,3*	3,0±0,3*	3,0±0,3	4,0±0,3*
	Нейтрофилы юные	6,0±0,3▪	7,0±0,3*	7,0±0,3	5,0±0,3	3,0±0,3*	2,0±0,3	1,0±0,2*	0
	Нейтрофилы палочкоядерные	12,0±0,3	15,0±0,3*	13,0±0,3*	10,0±0,3	7,0±0,3	2,0±0,3	2,0±0,3	2,0±0,5
	Нейтрофилы сегментоядерные	24,0±0,3	21,0±0,3	21,0±0,5*	20,0±0,7*	23,0±1,0*	26,0±0,3*	26,0±0,5*	28,0±0,8*
	Лимфоциты	56,0±0,9	55,0±0,7	57,0±0,5*	61,0±0,7*	63,0±0,7*	65,0±0,7*	67,0±0,3*	65,0±0,8
	Моноциты	1,0±0,3	1,0±0,3	1,0±0,3	2,0±0,3*	2,0±0,3*	2,0±0,3*	1,0±0,3	1,0±0,3
3 – ожог + 5% декспантенол	Эозинофилы	1,0±0,3▪	1,0±0,3*	1,0±0,3	2,0±0,5*	3,0±0,5*	3,0±0,3*	4,0±0,5*	4,0±0,3*
	Нейтрофилы юные	4,0±0,3▪	3,0±0,3	1,0±0,3	1,0±0,2	0	0	0	0
	Нейтрофилы палочкоядерные	16,0±0,3▪	14,0±0,3	12,0±0,3	7,0±0,3	2,0±0,2*	2,0±0,3*	1,0±0,5*	1,0±0,5*
	Нейтрофилы сегментоядерные	22,0±0,3▪	22,0±0,5*	23,0±0,8*	24,0±1,4*	26,0±1,0*	27,0±1,2*	28,0±0,8*	28,0±0,8
	Лимфоциты	54,0±0,7▪	59,0±1,0*	62,0±0,5*	64,0±0,8*	66,0±0,7*	66,0±0,7*	66,0±0,8*	66,0±0,8
	Моноциты	1,0±0,5▪	1,0±0,5*	1,0±0,5*	2,0±0,7*	3,0±0,5*	2,0±0,5*	1,0±0,8*	1,0±0,3

Продолжение таблицы 14

4 – ожог + ПЛ на основе ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	Эозинофилы	1,0±0,3	1,0±0,3	2,0±0,3	2,0±0,3*	3,0±0,3*	3,0±0,3*	4,0±0,3*	4,0±0,5*
	Нейтрофилы юные	4,0±0,3▪	3,0±0,3	2,0±0,3*	0	0	0	0	0
	Нейтрофилы палочкоядерные	14,0±0,3▪	12,0±0,5	11,0±0,3*	8,0±0,3*	3,0±0,3*	1,0±0,3*	1,0±0,3*	1,0±0,3*
	Нейтрофилы сегментоядерные	22,0±0,5▪	22,0±0,9*	23,0±0,7	24,0±0,7*	26,0±0,7*	26,0±0,5*	28,0±0,8*	28,0±0,8*
	Лимфоциты	60,0±1,0▪	62,0±0,7*	63,0±1,4*	64,0±1,2*	65,0±0,8*	67,0±1,0*	66,0±0,9*	66,0±0,8*
	Моноциты	1,0±0,3▪	1,0±0,8	1,0±0,5	3,0±0,3*	3,0±0,5*	2,0±0,4*	1,0±0,3	1,0±0,3
5 – ожог + ПЛ на основе ЭПС <i>S. thermophilus</i>	Эозинофилы	1,0±0,5▪	1,0±0,3	2,0±0,3*	3,0±0,3*	4,0±0,3*	4,0±0,3*	4,0±0,3*	4,0±0,3*
	Нейтрофилы юные	6,0±0,2▪	4,0±0,3	2,0±0,3*	0	0	0	0	0
	Нейтрофилы палочкоядерные	13,0±0,3▪	12,0±0,3*	11,0±0,2*	8,0±0,2*	2,0±0,3*	2,0±0,3*	2,0±0,3*	2,0±0,3*
	Нейтрофилы сегментоядерные	20,0±0,5▪	21,0±0,5*	22,0±0,6*	24,0±0,6*	25,0±0,8*	26,0±0,7*	28,0±1,0*	28,0±0,9*
	Лимфоциты	54,0±0,9▪	60,0±0,8*	62,0±0,7*	63,0±0,8*	66,0±1,0*	66,0±0,7*	65,0±0,9*	65,0±0,7*
	Моноциты	1,0±0,3▪	1,0±0,3	2,0±0,3*	3,0±0,4*	3,0±0,3*	2,0±0,3	1,0±0,5*	1,0±0,3*
6 – ожог + ЭПС <i>L. lactis</i> В-1662	Эозинофилы	1,0±0,3	1,0±0,3	2,0±0,2	2,0±0,3*	3,0±0,3*	4,0±0,3*	4,0±0,3*	4,0±0,5*
	Нейтрофилы юные	4,0±0,3▪	4,0±0,3	2,0±0,3*	0	0	0	0	0
	Нейтрофилы палочкоядерные	12,0±0,3▪	12,0±0,3	10,0±0,3*	7,0±0,2*	3,0±0,3*	1,0±0,3*	1,0±0,3*	1,0±0,3*
	Нейтрофилы сегментоядерные	20,0±0,7▪	20,0±0,7*	23,0±0,5	24,0±0,7*	26,0±1,0*	26,0±0,5*	28,0±0,7*	28,0±0,8*
	Лимфоциты	62,0±1,0▪	62,0±0,7*	63,0±1,4*	64,0±1,2*	65,0±0,8*	67,0±1,0*	66,0±0,8*	66,0±0,7*
	Моноциты	1,0±0,5▪	1,0±0,8	1,0±0,5	3,0±0,3*	3,0±0,5*	2,0±0,4*	1,0±0,3	1,0±0,3
7 – ожог + ЭПС <i>S. thermophilus</i>	Эозинофилы	1,0±0,5▪	1,0±0,3	2,0±0,3*	3,0±0,3*	4,0±0,3*	4,0±0,3*	4,0±0,3*	4,0±0,3*
	Нейтрофилы юные	6,0±0,2▪	4,0±0,3	2,0±0,3*	0	0	0	0	0
	Нейтрофилы палочкоядерные	15,0±0,3▪	12,0±0,3*	10,0±0,2*	7,0±0,2*	2,0±0,3*	2,0±0,3*	2,0±0,3*	2,0±0,3*
	Нейтрофилы сегментоядерные	20,0±0,5▪	20,0±0,5*	22,0±0,7*	24,0±0,4*	25,0±0,7*	26,0±0,7*	28,0±0,8*	28,0±0,7*
	Лимфоциты	51,0±0,8▪	62,0±1,2*	62,0±1,0*	63,0±0,8*	66,0±0,7*	66,0±0,8*	65,0±1,3*	65,0±0,8*
	Моноциты	1,0±0,3▪	1,0±0,3	2,0±0,5*	3,0±0,4*	3,0±0,4*	2,0±0,3	1,0±0,5*	1,0±0,3*

Примечание –  $p \leq 0,05$  ▪ относительно 1 группы (контроля без ожога); \* относительно показателя в своей же группе в 1 сутки.

То есть, исследуемые бактериальные ЭПС и в виде растворов, и в виде пленочных покрытий, увеличивали долю эозинофилов, моноцитов, сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов по сравнению с ожоговой группой без лечения. При этом практически идентичную картину наблюдали и в группе животных, где для лечения использовали 5% декспантенол. Также эти результаты могут свидетельствовать о том, что ЭПС не токсичны и не аллергенны, поскольку не развилась эозинофилия и в форменных элементах белой крови отсутствовали типичные для патологии морфологические изменения.

Таким образом, исходя из данных лейкограммы, можно говорить о том, что ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и в виде раствора, и в качестве основы пленочных покрытий, способствуют нормальному (не патологическому) течению процесса и благоприятному исходу заживления ожоговых ран при отсутствии осложнений.

## Заключение

Интерес к экзополисахаридам микроорганизмов за последнее десятилетие значительно возрос. Бактериальные ЭПС используются в нефтяной, химической, фармацевтической промышленности, в пищевой отрасли, в медицине и ветеринарии, сельском хозяйстве и т.д. Микробные ЭПС используют при создании лечебных и косметических мазей и гелей, «некапающих» красок, пищевых добавок и пищевых пленочных покрытий, кровезаменителей и т.д. Полисахариды молочнокислых бактерий стимулируют фагоцитарную активность лейкоцитов и макрофагов, стимулируют неспецифическую резистентность к инфекциям, обладают бактерицидным действием против условно-патогенных микроорганизмов и стимулируют рост нормальной микрофлоры, это касается лактобацилл [25, 53, 61, 66, 68, 78, 80, 131, 139, 190, 197, 203, 205] и бифидобактерий [119, 130, 154, 180, 193, 201, 202, 204]. Из литературы известно о защитной роли ЭПС бактерий, их участии в формировании микробиоты и в регуляции взаимодействия микроорганизмов между собой, но многие вопросы о роли полисахаридов лактококков в животном организме до сих пор малоизучены [162, 165, 176, 177, 224].

В связи с вышесказанным, изучение биологической активности экзополисахаридов культур молочнокислых бактерий *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* явилось актуальным и весьма перспективным.

Первоначальным этапом исследований явилось изучение общей токсичности исследуемых ЭПС на тест-объектах *C. steinii* и белых новозеландских кроликах. Было показано, что данные ЭПС не токсичны: изменения формы, внешнего вида и гибели *C. steinii* не происходило; гиперемии, шелушения кожного покрова у кроликов не наблюдали.

В процессе исследований антимикробной активности молочнокислых культур *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и их ЭПС было показано, что

*L. lactis* В-1662 проявлял бактерицидные свойства в отношении следующих тест-культур: *E. coli* 113-13 и АТСС 25922, *S. aureus* 209-Р, *P. aeruginosa* АТ-31 и АТСС 27853, но в меньшей степени, чем *S. thermophilus*. *L. lactis* В-1662 не подавлял рост *K. pneumoniae* К2 и грибов *C. albicans* 223 и 13108. *S. thermophilus* также подавлял рост *K. pneumoniae* К2. В отношении же *B. subtilis* 262 и грибов рода *Candida*, также как и у *L. lactis* В-1662, антимикробного эффекта не наблюдалось.

При определении антимикробной активности ЭПС было показано, что ЭПС *L. lactis* В-1662 в концентрации 0,06 г/л также оказывал антимикробное воздействие на *S. aureus* 209-Р, *P. aeruginosa* АТ-31 и АТСС 27853, *B. subtilis* 262, а в концентрации 0,006 г/л еще и на *E. coli* 113-13 и АТСС 25922. Обнаружено, что ЭПС *S. thermophilus* в концентрациях 0,006 г/л и 0,06 г/л угнетал рост *E. coli* 113-13 и АТСС 25922, *S. aureus* 209-Р, *K. pneumoniae* К2, *P. aeruginosa* АТ-31 и АТСС 27853. Оба ЭПС в концентрации 0,06 г/л оказывали большее бактерицидное действие, чем в концентрации 0,006 г/л. Однако диаметр стерильных зон при влиянии ЭПС лактококка был меньше, чем при влиянии ЭПС стрептококка. Таким образом, ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*, так же как и сами продуценты, обладают способностью в разной степени угнетать рост *E. coli* 113-13 и АТСС 25922, *S. aureus* 209-Р, *P. aeruginosa* АТСС, *B. subtilis* 262, *P. aeruginosa* АТ-31 и АТСС 27853, также ЭПС лактококка подавлял рост *B. subtilis* 262, а ЭПС стрептококка – *K. pneumoniae* К2, однако на изучаемых грибах это свойство не обнаруживалось. Полученные результаты свидетельствуют, что именно за счет ЭПС данные молочнокислые бактерии проявляют антимикробную активность.

Следующим этапом исследований было выяснение влияния ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* на иммунный статус белых мышей. Было установлено, что оба ЭПС в концентрации 0,06 г/л в разной степени стимулировали продукцию основных провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\alpha$  и

ФНО- $\alpha$  перитонеальными и альвеолярными макрофагами и фагоцитарную активность макрофагов мышей, способствуя активации факторов естественной резистентности.

Активность макрофагов мышей, которым вводили ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*, существенно отличалась от контрольных значений на всех стадиях процесса фагоцитоза *S. aureus* 209-Р. Установлено, что наибольшее воздействие ЭПС *L. lactis* В-1662 оказывал на синтез ИЛ-1 $\alpha$  АМФ в 1, 5 и 7 сутки, ПМФ – в 1 и 3 сутки. ЭПС *S. thermophilus* более всего стимулировал синтез ИЛ-1 $\alpha$  АМФ на 3 и 7 сутки, ПМФ – на 3, 5 и 7 сутки. В то же время ЭПС лактококка и термофильного стрептококка не оказывали воздействие на синтез ФНО- $\alpha$ .

Исследуемые ЭПС, влияя на АМФ и ПМФ, оказывали значительное воздействие на процесс фагоцитоза. Так, ЭПС *S. thermophilus* активировал процесс фагоцитоза в несколько раз (в 2,6 и 3 раз для АМФ и ПМФ соответственно) по сравнению с ЭПС *L. lactis* В-1662, и ускорял его завершение (в 1,5 раза для АМФ и ПМФ); фагоцитоз был полностью завершен на 7 сутки. Стимулируя продукцию провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\alpha$ , ЭПС *S. thermophilus* в значительной мере, по сравнению с ЭПС *L. lactis* В-1662, влиял на активность макрофагов, увеличивал их поглотительную функцию.

Использование экзополисахарида *S. thermophilus* в рационе ленского осетра в условиях аквариумной установки в концентрации 0,04 г/кг способствовало увеличению массы рыб (прирост ихтиомассы, интенсивность роста и среднесуточный прирост был выше по отношению к контрольной группе на 8,2%, 3,9% и 8,1% соответственно), не оказывая негативного влияния на физиологическое состояние рыб согласно биохимическим показателям, а также улучшало органолептические показатели (вкус и консистенцию) рыбного мяса. Использование ЭПС *S. thermophilus* для кормления ленского осетра экономически эффективно, поскольку

способствует уменьшению затрат кормов (на 1 кг прироста затраты корма ниже на 0,12 кг).

Дальнейшие исследования были связаны с изучением влияния пленочных покрытий, созданных на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*, на заживление ожога степени IIIа у самок крыс. Для заживления на рану наносили гель, который при застывании образовывал высокопрочное и растяжимое пленочное покрытие.

Пленочные покрытия, созданные на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*, способствовали в разной мере заживлению ожогов степени IIIа у крыс и восстановлению кожно-шерстного покрова в более ранние сроки: так, применение пленочного покрытия на основе *S. thermophilus* заживляло на 7 суток раньше относительно контрольной группы без лечения, на 4 суток раньше по сравнению с применением 5% декспантенола, на 2 суток – растворов ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочного покрытия на основе ЭПС *L. lactis* В-1662. Пленочное покрытие на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 способствовало заживлению на 5 суток раньше относительно контрольной группы без лечения, на 2 суток – 5% декспантенола, и в то же время, что и растворы ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*. Для всесторонней оценки степени заживления ожоговых ран были исследованы смывы с ожоговой поверхности, значительных изменений микрофлоры при изучении КМАФАнМ у животных большинства групп не происходило. При определении бактерий группы кишечной палочки было обнаружено их уменьшение в группе крыс с ожогом по сравнению с интактными животными. У крыс групп, обработанных ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочными покрытиями на их основе, происходило значительное их уменьшение по сравнению группами – интактной, без лечения, с применением 5% декспантенола, при этом наиболее выраженный эффект в подавлении БГКП проявил ЭПС *S. thermophilus* и пленочное покрытие на его основе. При выявлении стафилококков на поверхности

ожогов в группах крыс, обработанных ЭПС *L. lactis* B-1662 и *S. thermophilus* и пленочными покрытиями на их основе, было обнаружено значительное снижение числа стафилококков по сравнению контрольными группами (с интактной, без лечения, леченных коммерческим препаратом 5% декспантенолом). Наилучший эффект в подавлении условно-патогенной микрофлоры проявлял раствор ЭПС *S. thermophilus* и пленочное покрытие на его основе.

Следующим этапом в оценке влияния ЭПС молочнокислых культур на процессы заживления ожогов было определение влияния ЭПС на различные формы лейкоцитов (эозинофилы, нейтрофилы, лимфоциты, моноциты) – лейкограмму. Влияние ЭПС и пленочных покрытий, созданных на их основе, на кроветворную функцию отмечалось с самого начала после моделирования ожога и обработки крыс ЭПС, пленочными покрытиями и 5% декспантенолом: так, уже с 1 суток отмечалось значительное увеличение количества нейтрофилов – реактивная нейтрофилия (регенеративный сдвиг ядра влево), частой причиной которого являются бактериальные инфекции, сопровождающие ранения, в том числе и ожоги, – во всех группах, чуть более выраженный эффект наблюдали во 2 контрольной группе с ожогом без лечения и в 5 группе, где использовали для лечения ЭПС *S. thermophilus*. Наличие юных нейтрофилов в первые несколько суток в группах, где применяли ЭПС и пленочные покрытия на их основе, свидетельствует об усилении их продукции костным мозгом, как самый первый ответ на бактериальные инфекции. На 14 сутки наблюдалось снижение уровня нейтрофилов до значений интактной группы, что свидетельствует об окончании воспалительного процесса. В группе с ожогом без лечения подобный эффект наблюдали на 28 сутки. При определении эозинофилов в 1 сутки наблюдали резкое понижение их числа (относительная анэозинопения) в 2, 3, 4, 5, 6, 7 группах. Через 7 суток их число возрастало в группах 5 (пленочное покрытие на основе ЭПС *S. thermophilus*) и 7 (ЭПС

*S. thermophilus*), как и число моноцитов, а через 10 суток их количество увеличивалось и в 3, 4, 6 группах, во 2 группе без лечения – только на 14 сутки. Можно предположить, что именно за счет такой вызываемой реакции – увеличения моноцитов и эозинофилов – изучаемые ЭПС проявляют антимикробную активность. Повышение числа эозинофилов подтверждается данными, полученными нами ранее об увеличении числа макрофагов под действием изучаемых ЭПС. Наиболее выраженное влияние на увеличение доли эозинофилов и моноцитов оказал ЭПС *S. thermophilus*. В группах крыс с применением исследуемых бактериальных ЭПС, пленочных покрытий на их основе и коммерческого препарата 5% декспантенола процентное содержание лейкоцитов восстановилось до физиологической нормы раньше, чем в группе без лечения. Изменений в морфологии лейкоцитов животных опытных групп по сравнению с показателями животных в контроле на протяжении эксперимента установлено не было.

Наиболее выраженный эффект исследуемые ЭПС и пленочные покрытия оказывали на эозинофилы, моноциты, сегментоядерные нейтрофилы и лимфоциты по сравнению с ожоговой группой без лечения, при этом практически идентичную картину наблюдали и в группе животных, где для лечения использовали 5% декспантенол. Наблюдаемые в ходе эксперимента лимфоцитоз, повышение уровня нейтрофилов, характерны для ожоговых ранений, сопровождающихся бактериальными инфекциями.

Было установлено, что пленочное покрытие, созданное на основе ЭПС *S. thermophilus*, подавляя рост бактерий группы кишечной палочки и стафилококка и способствуя нормальному (не патологическому) течению процесса при отсутствии осложнений, приводит к более быстрому заживлению ожоговых ранений у экспериментальных животных (крыс), что делает его применение предпочтительным.

Разница в химических свойствах изучаемых ЭПС – молекулярной массе, углеводном составе, наличие значительной слизистой полисахаридной

оболочки вокруг клетки у *S. thermophilus*, что характерно для этих бактерий [189, 216], возможно, объясняет преимущество ЭПС этой культуры по сравнению с ЭПС *L. lactis* В-1662 в экспериментах, поскольку известно [15, 186, 218], что в части реологических свойств играют роль молекулярная масса, структура ЭПС, размер слоя ЭПС молочнокислых бактерий, и что, возможно, обуславливает разнообразие биологических свойств. В пользу этого свидетельствуют результаты исследования физико-химических и биологических свойств ЭПС других молочнокислых бактерий – *L. delbrueckii* [78, 80], где высокая молекулярная масса ЭПС связана с большей биологической активностью.

Таким образом, в результате проведенных исследований были получены новые данные о биологической активности ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* in vitro и в организме животных, которые могут найти применение в медико-биологической практике и сельском хозяйстве.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Полученные результаты по изучению биологической активности ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* способствуют пониманию их важной роли в организме животных, свидетельствуют о положительном влиянии на организм рыб, заживлении ожоговых ран животных при применении их в виде пленочных покрытий, открывают возможность и показывают целесообразность их использования в перспективе в животноводстве и других различных отраслях сельского хозяйства.

## Выводы

1. Установлено, что экзополисахариды *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* в концентрации 0,06 г/л не являются токсичными для биотест-объектов *C. steinii* и белых новозеландских кроликов.

2. Обнаружено, что *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и их ЭПС проявляют антимикробную активность в отношении некоторых представителей условно-патогенной микрофлоры. ЭПС *L. lactis* В-1662 в концентрациях 0,006 г/л и 0,06 г/л оказывал антимикробное воздействие на *S. aureus* 209-Р, *P. aeruginosa* АТ-31 и АТСС 27853, *B. subtilis* 262, в концентрации 0,06 г/л еще на *E. coli* 113-13 и АТСС 25922. ЭПС *S. thermophilus* в концентрациях 0,006 г/л и 0,06 г/л угнетал рост *E. coli* 113-13 и АТСС 25922, *S. aureus* 209-Р, *K.pneumoniae* К2, *P. aeruginosa* АТ-31 и АТСС 27853. В концентрации 0,06 г/л ЭПС оказывали большее бактерицидное действие.

3. Показано, что ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* в концентрации 0,06 г/л *in vitro* усиливает синтез провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\alpha$  и не оказывают влияния на ФНО- $\alpha$  альвеолярными и перитонеальными макрофагами белых мышей в процессе фагоцитоза *S. aureus* 209-Р. Определено стимулирующее влияние изучаемых ЭПС на фагоцитарную активность АМФ и ПМФ при фагоцитозе *S. aureus* 209-Р *in vitro* в концентрации 0,06 г/л. Больше влияние оказывал на фагоцитоз ЭПС *S. thermophilus*.

4. Установлено, что использование в кормлении ленского осетра экзополисахарида *S. thermophilus* способствует увеличению их живой массы, повышению количества молочнокислых бактерий в кишечнике, улучшению органолептических показателей (вкуса и консистенции) мяса рыбы, не оказывает влияния на биохимические показатели крови рыб, приводит к снижению затрат корма на 0,12 кг на 1 кг прироста.

5. Пленочные покрытия, созданные на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и обладающие высокой прочностью и растяжимостью, способствуют заживлению ожогов степени IIIa у крыс и восстановлению кожно-шерстного покрова: на 5 и 7 суток раньше по сравнению с животными без лечения; на 2 и 4 суток – с применением 5% декспантенола соответственно. Наибольший регенерирующий эффект выявлен в отношении пленочного покрытия, созданного на основе ЭПС стрептококка.

6. Показано, что растворы ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* и пленочные покрытия на их основе способствовали значительному уменьшению числа бактерий группы кишечной палочки и стафилококков в микрофлоре ожогов (в 10 и 200 раз соответственно по сравнению с интактными животными, животными без лечения и животными, леченными 5% декспантенолом) и нормальному, без осложнений, течению процесса заживления. Наиболее выраженный эффект проявил ЭПС *S. thermophilus* и пленочное покрытие на его основе.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМФ – альвеолярные макрофаги

БГКП – бактерии группы кишечной палочки

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИАК – индекс активации киллинга

ИЛ – интерлейкин

ИЛ-1 $\alpha$  – интерлейкин-1 $\alpha$

ИФА – иммуноферментный анализ

КОЕ/см<sup>3</sup> – колониеобразующие единицы на кубический сантиметр (г, мл)

ЛБА – лактобакагар

ЛПС – липополисахариды

МПА – мясо-пептонный агар

ПЛ – пленочное покрытие

ПМФ – перитонеальные макрофаги

ПС – полисахарид

ФНО – фактор некроза опухоли

ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли

ЭПС – экзополисахариды

IgG – иммуноглобулин G

IgM – иммуноглобулин M

sIgA – секреторный иммуноглобулин A, Secretory IgA

Th1 – Т-лимфоцит, Т-хелпер 1

## Список литературы

1. Ажикова, А.К. Исследование гематологических показателей крыс в норме и в условиях термического воздействия / А.К. Ажикова, Г.Ф. Журавлева // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2. – <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24350>
2. Ажикова, А.К. Использование пуповинной крови для восстановления кожи после термической травмы / А.К. Ажикова, М.В. Лазько // Естественные науки: Журнал фундаментальных и прикладных исследований. – 2008. – № 4. – С. 53 – 57.
3. Алешукина, А.В. Видовой состав лактобактерий / А.В. Алешукина // VIII съезд Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов: материалы съезда. – Москва, 2002. – Т. 1. – С. 127 – 128.
4. Андреев, В.В. Органолептическая и дегустационная оценка мяса цыплят-бройлеров, получавших в рационе комплекс органических микроэлементов / В.В. Андреев // Молодой ученый. – 2013. – № 3 (50). – С.534 – 536.
5. Аркадьева, Г.Е. Биологическая активность некоторых микробных полисахаридов / Г.Е. Аркадьева // Автореферат докт. дисс... . – Санкт-Петербург. – 1974. – 24 с.
6. Арутюнян, М.В. Роль молочнокислых бактерий в организме человека / М.В. Арутюнян // Микробиология. – 1999. – Т. 31, № 4. – С. 72 – 84.
7. Афонская, С.В. Профилактическое действие экстрацеллюлярных полисахаридов некоторых видов рода *Bacillus* при стафилококковой инфекции / С.В. Афонская, Э.Л. Колесова // V Съезд Украинского микробиологического общества: тезисы докладов. – Киев: Наукова думка, 1980. – С. 156.
8. Басс-Шадхан, Х.Ф. Зимозан: методы получения. Биохимическая характеристика и перспективы применения / Х.Ф. Басс-Шадхан. – Рига, 1970. – 313 с.

9. Беседнова, Н.Н. Иммунотропные свойства  $1\rightarrow 3$ ;  $1\rightarrow 6$ - $\beta$ -D-глюкоанов / Н.Н. Беседнова, Л.А. Иванушко, Т.Н. Звягинцева [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2000. – № 2. – С. 37 – 44.
10. Богуцкий, М.И. Применение пирогенала в комплексной терапии больных вирусным гепатитом / М.И. Богуцкий // Здоровоохранение Белоруссии. – 1978. – № 5. – С. 58 – 60.
11. Богуцкий, М.И. Влияние пирогенала на некоторые гематологические показатели у здоровых людей / М.И. Богуцкий, В.С. Васильев // Биологически активные вещества и изучение механизма их действия (полисахариды, витамины, гормоны, препараты анаболического действия): тезисы IX научной конференции Гродненского медицинского института. – Гродно, 1978. – С. 6.
12. Большая Медицинская Энциклопедия (БМЭ) / под ред. Б.В. Петровского, 3-е издание. – М.: Советская энциклопедия, 1988. – 557 с.
13. Ботвинко, И.В. Экзополисахариды бактерий / И.В. Ботвинко // Успехи микробиологии. – 1985. – Т. 20. – С. 79 – 122.
14. Ботина, С.Г. Использование штаммов молочнокислых бактерий, синтезирующих экзополисахариды, в производстве кисломолочных продуктов питания / С.Г. Ботина, И.В. Рожкова, В.Ф. Семенихина // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2010. – №1. – С. 38 – 40.
15. Ботина, С.Г. Штаммы *Streptococcus thermophilus*, продуцирующие экзополисахариды / С.Г. Ботина, И.В. Рожкова, В.Ф. Семенихина // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2010. – № 2. – С. 33 – 35.
16. Булдаков, А.С. Пищевые добавки: Справочник / А.С. Булдаков. – СПб.: Ut, 1996. – 240 с.
17. Буряков, Н.П. Полисахариды в кормлении молочного скота / Н.П. Буряков, А.В. Косолапов, М.А. Малков [и др.] // Сыроделие и маслоделие. – 2017. – №6. – С. 51 – 54.

18. Бухало, А.С. Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре: Сборник научных трудов в двух томах. Т. 1 / А.С. Бухало, В.Г. Бабицкая, Н.А. Бисько [и др.]. – Киев: Альтерпрес, 2011. – 212 с.
19. Васильев, В.С. Липополисахариды в процессе иммуногенеза: тенденции научного поиска и итоги изучения в условиях инфекционной патологии / В.С. Васильев // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – № 1(45). – С. 98 – 103.
20. Васильев, И.К. Опыт применения препарата «Сальмозан» при лечении мелких домашних животных / И.К. Васильев, А.В. Санин // Ветеринария Кубани. – 2007. – № 2. – С. 58 – 60.
21. Воробьев, А.В. Микробиология / А.В. Воробьев, А.С. Быков, Е.П. Пашков [и др.]. – М.: Медицина, 2003. – С. 336.
22. Воробьев, В.Я. Теория и эксперимент / В.Я. Воробьев, А.И. Елсуков // Минск: Высшая школа, 1989. – 109 с.
23. Галимзянов, Ф.В. Лечение инфицированных ран и раневой инфекции / Ф.В. Галимзянов. – Екатеринбург: УГМА, 2012. – 88 с.
24. Горельникова, Е.А. Действие экзополисахаридов лактобацилл на фагоцитарную и цитокиновую активность *in vitro* и в организме животных при моделировании инфекционного процесса / Е.А. Горельникова, Л.В. Карпунина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2015. – №5. – С. 44 – 50.
25. Горельникова, Е.А. Влияние экзополисахаридов на цитокиновый статус лабораторных мышей / Е.А. Горельникова, Е.В. Полукаров, Л.В. Карпунина [и др.] // Медицинская иммунология. – 2009. – Т. 11, № 4-5. – С. 309 – 310.
26. ГОСТ 10354-82. Пленка полиэтиленовая. – М.: Стандартиформ, 2007.
27. ГОСТ 7631-2008. Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей. – М.: Стандартиформ, 2008.

28. ГОСТ 31986-2012. Услуги общественного питания. Метод органолептической оценки качества продукции общественного питания (Переиздание). – М.: Стандартинформ, 2019. – 12 с.
29. ГОСТ 31674-2012. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности. – Москва, Стандартинформ, 2014. – 17 с.
30. Гулиев, Р.А. Некоторые биохимические показатели крови рыб дельты Волги / Р.А. Гулиев, Э.И. Мелякина // Вестник АГТУ. Серия Рыбное хозяйство. – 2014. – №2. – С. 85 – 91.
31. Данилевская, Н.В. Физиологическая роль основных представителей нормальной микрофлоры мелких домашних животных / Н.В. Данилевская // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2008. – № 1. – С. 28 – 31.
32. Джемухадзе, Н.К. Применение аэрозолей продигозана и метацила для стимуляции активности легочных макрофагов в эксперименте / Н.К. Джемухадзе, С.И. Эйделштейн, А.И. Брауде // Антибиотики. – 1969. – Т. 14, №11. – С. 1030 – 1034.
33. Доронин, А.Ф. Функциональное питание / А.Ф. Доронин, Б.А. Шендеров // М.: Грантъ. – 2002. – 296 с.
34. Елинов, Н.П. Некоторые микробные полисахариды и их практическое применение / Н.П. Елинов // Успехи микробиологии. – М.: Наука, 1982. – С. 158 – 177.
35. Ермольева, З.В. Антибиотики, интерферон, бактериальные полисахариды / З.В. Ермольева. – М.: Медицина, 1968. – 384 с.
36. Ермольева, З.В. Стимуляция неспецифической резистентности организма и бактериальные полисахариды / З.В. Ермольева, Г.Е. Вайсберг. – М.: Медицина, 1976. – 184 с.
37. Забоклицкий, Н.А. Разработка экспериментальных образцов новой лекарственной формы пробиотика субтилакт на основе бактерий *Bacillus subtilis* и *Lactobacillus plantarum* и изучение их фармакологических свойств в

эксперименте / Н.А. Забокрицкий // Автореф. дис. канд. мед. наук... – Челябинск, 2006. – 23 с.

38. Змитрович, И.В. Метаболиты базидиальных грибов, эффективные в терапии рака и их молекулярные мишени: обзор / И.В. Змитрович // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2015. – № 3. – С. 264 – 286.

39. Зубков, М.Н. Современная таксономия и номенклатура облигатно-анаэробных бактерий, выделенных от человека / М.Н. Зубков // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 312 – 322.

40. Карпунина, Л.В. Бактерицидные свойства лектинов азотфиксирующих бацилл / Л.В. Карпунина, У.Ю. Мельникова, Ю.В. Сулова [и др.] // Микробиология. – 2003. – Т. 72, № 3. – С. 343 – 347.

41. Кашкина, М.А. Влияние дрожжевых полисахаридов на иммунологическую реактивность организма / М.А. Кашкина // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Ленинград, 1974. – 19 с.

42. Квасников, Е.И. Молочнокислые бактерии и пути их использования / Е.И. Квасников, О.А. Нестеренко. – М.: Издательство «Наука», 1975. – 384 с.

43. Киндзельский, Л.П. Терапевтический эффект при комплексном воздействии пирогенала и облучения на саркому 45 крыс / Л.П. Киндзельский, В.В. Арунгазыева // Вопросы онкологии. – 1978. – Т. 24, № 1. – С. 34 – 38.

44. Кондратьева, И.А. Практикум по иммунологии / И.А. Кондратьева, И.В. Воробьева, О.В. Буракова [и др.]. – М.: МГУ, 2001. – 224 с.

45. Кочетков, Н.К. Синтез полисахаридов / Н.К. Кочетков. – М.: Наука, 1994. – 217 с.

46. Лабинская, А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований / А.С. Лабинская // М.: Медицина. – 1978. – 394 с.

47. Ленцнер, А.А. Лактофлора и колонизационная резистентность / А.А. Ленцнер, Х.П. Ленцнер, М.В. Микельсаар [и др.] // Антибиотики и медицинская биотехнология. – 1987. – Т. 32, № 3. – С. 173 – 179.
48. Ленцнер, А.А. Лактофлора влагалища и перспективы создания пробиотиков из лактобацилл для профилактики и лечения вульвовагинального кандидоза / А.А. Ленцнер, Х.П. Ленцнер, Т.В. Карки // Журнал акушерства и женских болезней. – 1998. – Спец. выпуск. – С. 85 – 86.
49. Лорие, Ю.И. Использование пирогенала для оценки гранулоцитарного резерва костного мозга / Ю.И. Лорие, Е.А. Соловьева, Г.Д. Левина // Вопросы Онкологии. – 1968. – Т. 14, № 2. – С. 45 – 49.
50. Ляшенко, А.А. К вопросу о систематизации цитокинов / А.А. Ляшенко, А.А. Уваров // Успехи современной биологии. – 2001. – Т. 121, № 6. – С. 589 – 603.
51. Макарова, С.Г. Кишечная микробиота и использование пробиотиков в практике педиатра. Что нового? / С.Г. Макарова, Л.С. Намазова-Баранова // Педиатрическая фармакология. – 2015. – № 12 (1). – С. 38 – 45.
52. Максимова, О.В. Микробиота кишечника и аллергические заболевания / О.В. Максимова, В.Б. Гервазиева, В.В. Зверев // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2014. – № 3. – С. 49 – 60.
53. Мизина, П.Г. Фитопленки в фармации и медицине / П.Г. Мизина // Фармация. – 2000. – № 5. – С. 38 – 40.
54. Мизина, П.Г. Изучение влияния органоминерального комплекса гидроксиапатита на картину белой крови экспериментальных животных / П.Г. Мизина, В.Е. Кузьмина, Н.А. Захаров [и др.] // Стоматология. – 2008. – № 5. – С.9 – 12.
55. Митыпова, Н.В. Разработка технологии концентрированной закваски на основе симбиоза пробиотических бактерий / Н.В. Митыпова // дисс. ... канд. тех. наук. – Улан-Уде, 2007. – 166 с.

56. Навашин, С.М. Влияние некоторых микробных полисахаридов на перевиваемые опухоли животных / С.М. Навашин, И.П. Фомина, Т.Г. Терентьева // Вестник АМН СССР. – 1964. – Т. 158, № 4-6. – С. 981.
57. Никитин, В.Н. Атлас клеток крови сельскохозяйственных и лабораторных животных / В.Н. Никитин. – М.: Государственное издательство сельскохозяйственной литературы, 1949. – С. 118.
58. Николаева, Т.Н. Иммуностимулирующая и антиканцерогенная активность нормальной лактофлоры кишечника / Т.Н. Николаева, В.В. Зорина, В.М. Бондаренко // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2004. – № 4. – С. 39 – 43.
59. Новик, Г.И. Получение новых пробиотиков и изучение их влияния на белковый обмен и формирование нормальной микрофлоры у поросят / Г.И. Новик, А.Н. Михалюк, А.А. Самарцев [и др.] // Биотехнология. – 2006. – № 6. – С. 63 – 71.
60. Нурмухамедов, А.В. Влияние экзополисахаридов молочнокислых бактерий на микрофлору толстого отдела кишечника мышей / А.В. Нурмухамедов, Л.В. Карпунина // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2010. – № 12. – С. 29 – 31.
61. Онищенко, Г.Г. Иммунобиологические препараты и перспективы их применения в инфектологии / Г.Г. Онищенко, В.А. Алёшкин, С.С. Афанасьев [и др.]. – М.: ГОУ ВУНМЦ Минздрава РФ. – 2002. – 608 с.
62. Остерман, Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот / Л.А. Остерман. – М.: Наука, 1985. – 536 с.
63. Пассаглия, Э. Приготовление и исследование пленок / Э. Пассаглия, Р. Маршессо // Методы исследования углеводов. – М.: Мир, 1975. – С. 413 – 428.
64. Пат. SU 1685472 A1 СССР, A61N1/30. Способ лечения больных вирусным гепатитом / А.И. Кузьмин, Ю.А. Ильинский, М.С. Сыздыков; ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при

ГКНТ СССР. – № 4428323; заявл. 20.06.1988; опубл. 23.10.1991., Бюл. № 39. – 3 с.

65 . Пат. №2091082С1 Российская Федерация, А61L 15/28, 15/30. Покрытие для ран и способ его получения / Б.К. Гаврилюк, Ю.А. Рочев, Е.Л. Паклин; патентообладатель: Б.К. Гаврилюк, Ю.А. Рочев, Е.Л. Паклин. – № 93052315/14; заявл. 18.11.1993; опубл. 27.09.1997.

66. Пат. №2151796 Российская Федерация, С12N1/20, С12P1/04, С12R1/04, С12R1:46. Штамм *Lactococcus lactis* – продуцент бактериоцина низина / М.Б. Биттеева, В.В. Бирюков, И.Н. Щерблыкин [и др.]; патентообладатель: Государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт биосинтеза белковых веществ». – № 99102703/13; заявл. 08.02.1999; опубл. 27.06.2000.

67. Пат. №RU2160092С2 Российская Федерация, А61P17/02, А61К9/10, А61К31/495. Антимикробный препарат для лечения инфицированных ран / А.Д. Чичкун-Крикова, Д.В. Селиверстов, С.А. Исаков [и др.]; патентообладатель: Рязанский областной клинический кожно-венерологический диспансер. – № 98102520/14, заявл. 16.02.1998; опубл. 10.12.2000.

68. Пат. 2295563 Российская Федерация, МПК7С 12N 1/20, АС 23С9/123, С12P19/04, С12R1/46, С12N 1/20. Штамм бактерий *Lactococcus lactis subsp. lactis* ВКПМ-8558, используемый в производстве молочной продукции, и способ получения стартерной культуры / В.И. Ганина, Е.В. Рожкова. – № 2005125605/13; заявл. 12.08.2005.; опубл. 20.03.2007, Бюл. № 8.

69. Пат. 2372922 Российская Федерация, А61К31/722, А61К31/375, А61К31/726, А61К31/7012, А61К31/727, А61К31/715, А61К38/39, А61P41/00, А61В17/00. Способ лечения глубокого ожога кожи / А.А. Власов, А.В. Еремеев, И.Н. Большаков [и др.]; патентообладатель: ГОУ ВПО «Красноярская государственная медицинская академия имени профессора

В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ. – № 2008124928/14; заявл. 18.06.2008; опубл. 20.11.2009, Бюл. № 32. – 14 с.

70. Пат. №2386436С1 Российская Федерация, А61К 31/14, А61К 31/731, А61К 47/36, А61Р 31/02, А61F 13/00. Способ лечения обширных ран / А.А. Алексеев, Б.К. Гаврилюк, К.З. Салахиддинов [и др.]; патентообладатель: А.А. Алексеев, Б.К. Гаврилюк. – № 2008135152/14; заявл. 02.09.2008; опубл. 20.04.2010.

71. Пат. RU2412612С1. Способ получения пробиотической кормовой добавки Ферм КМ для сельскохозяйственных животных и птицы / В.Г. Правдин, Л.З. Кравцова, Н.А. Ушакова [и др.]; патентообладатель: ООО «Научно-технический центр биологических технологий в сельском хозяйстве». – №2009148893/10; заявл. 29.12.2009; опубл. 27.02.2011, Бюл. № 6. – 11 с.

72. Пат.2436402 Российская Федерация, МПК А23И 7/16. Защитная среда для хранения очищенных овощей / Е.Н. Бухарова, В.Ф. Кащенко, Г.Е. Рысмухамбетова; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова». – № 2010116939/13; заявл. 28.04.2010; опубл. 20.12.2011, Бюл. № 35. – 8 с.

73. Пат. 2532180 Российская Федерация, МПК С08L 5/00. Пищевое пленочное покрытие / М.Н. Денисова, С.Г. Жук, Е.Н. Бухарова [и др.]; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова». – № 2013134600/05; заявл. 23.07.2013; опубл. 27.10.2014, Бюл. № 30. – 8 с.

74. Пат. 2662008 Российская Федерация, МПК С08L 5/00. Биоразлагаемое пищевое пленочное покрытие / К.Е. Белоглазова, А.А. Ульянин, А.Д. Горневская [и др.]; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский

- государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова». – № 2017142702; заявл. 12.07.2017; опубл. 23.07.2018, Бюл. № 21. – 8 с.
75. Петров, Р.В. Иммунология / Р.В. Петров. – М.: Медицина, 1987. – 416 с.
76. Пирог, Т.П. Образование и физико-химические характеристики экзополисахаридов некоторых бактерий рода *Bacillus* / Т.П. Пирог, А.Т. Слабоспицкая, С.К. Воцелко [и др.] // Микробиологический журнал – 1985. – Т. 47, № 6. – С.27 – 32.
77. Поддубная, И.В. Теоретическое и практическое обоснование использования органического йода в кормлении осетровых рыб: монография / И.В. Поддубная, А.А. Васильев // ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. – Саратов, 2017. – 252 с.
78. Полукаров, Е.В. Экзополисахариды молочнокислых бактерий и их функциональная значимость в организме животных / Е.В. Полукаров // Дис. канд. биол. наук... – Саратов. – 2009. – 106 с.
79. Пономарь, Н.С. Влияние препарата ионизированного серебра на репаративную регенерацию кожи и подлежащих тканей при моделировании термических и химических ожогов у крыс / Н.С. Пономарь // Биомедицина. – 2012. – № 1. – С. 143 – 148.
80. Правдивцева, М.И. Характеристика биологической активности экзополисахаридов бактерий рода *Lactobacillus* и перспективы их использования / М.И. Правдивцева // Дис. канд. биол. наук... – Саратов. – 2012. – 136 с.
81. Растунова, Г.А. Прогидрозан как активатор перитонеальных макрофагов / Г.А. Растунова // Антибиотики. – 1981. – № 6. – С. 524 – 544.
82. Рожкова, И.С. Влияние хронической интоксикации на свободнорадикальные процессы плазмы крови крыс / И.С. Рожкова, Д.Л. Теплый, Б.В. Фельдман // Научный руководитель. – 2015. – № 3(10). – С.1 – 7.

83. Розе, Л.В. Биологические свойства левана / Л.В. Розе, Г.К. Закенфельд, М.Г. Лайвениекс [и др.] // Изв. АН Латв ССР. – 1990. – Т. 2. – С. 56 – 64.
84. Рыбальченко, О.В. Образование биопленок симбионтными представителями микробиоты кишечника как форма существования бактерий / О.В. Рыбальченко, В.М. Бондаренко // Вестник СПбГУ. – 2013. – № 11 (1). – С. 179 – 186.
85. Санин, А.В. Усиление регенерации гемопоэза и изменения в кроветворной системе мышей под действием бактериального полисахарида сальмозана / А.В. Санин, Т.А. Краснянекая, Е.Б. Мысякин [и др.] // Иммунология. – 1988. – № 1. – С. 54 – 58.
86. Санин, А.В. Применение иммуномодуляторов при вирусных заболеваниях мелких домашних животных / А.В. Санин // Российский журнал ветеринарной медицины. – 2005. – № 1. – С. 4 – 9.
87. Симонова, Е.В. Роль нормальной микрофлоры в поддержании здоровья человека / Е.В. Симонова, О.А. Пономарева // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – №8. – С. 20 – 24.
88. Стоянова, Л.Г. Микробиологическая характеристика нового штамма *Lactococcus lactis subsp. lactis* К-205 / Л.Г. Стоянова, Т.Д. Сульtimoва, А.Р. Строева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2008. – № 1. – С. 60 – 63.
89. Терентьева, Е.Ю. Органолептические показатели и дегустационная оценка мяса цыплят-бройлеров, при использовании жидкой кормовой добавки Версал ликвид / Е.Ю. Терентьева, В.В. Салаутин, С.Е. Салаутина // Актуальные вопросы ветеринарной науки: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2015. – С. 233 –235.
90. Тетерина, Л.А. Роль микрофлоры толстой кишки в развитии латентной печеночной энцефалопатии / Л.А. Тетерина, Е.А. Чихачева, П.В. Селиверстов [и др.] // Лечащий врач. – 2012. – № 9. – С. 1 – 6.

91. Устюгова, Е.А. Синтез антибиотического комплекса широкого спектра действия лактококком *Lactococcus lactis subsp. lactis* 194-К / Е.А. Устюгова // Автореф. дис. канд. биол. наук... – М., 2012. – 25 с.
92. Учитель, И.Я. Пирогенал / И.Я. Учитель, Э.Л. Хасман. – М.: Медицина, 1965. – 78 с.
93. Фельдман, Б.В. Влияние хронической интоксикации на свободнорадикальные процессы плазмы крови крыс / Б.В. Фельдман // Научный руководитель. – 2015. – № 3(10). – С. 1 – 7.
94. Феоктистова, Н.В. Биопрепараты микробного происхождения в птицеводстве / Н.В. Феоктистова, А.М. Марданова, М.Т. Лутфуллин [и др.] // Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. – Т. 160, кн. 3. – 2018. – С. 395 – 418.
95. Фомина, А.А. Влияние бактериальных гликополимеров на функционально-метаболический статус лейкоцитов и активность ключевых ферментов метаболизма мышей / А.А. Фомина // Автореф. дис. канд. биол. наук... – Саратов. – 2010. – 22 с.
96. Фомина, И.В. Изучение бактерицидных свойств некоторых молочнокислых бактерий / И.В. Фомина, Н.А. Невесенко, Л.В. Карпунина // Молодежь и наука XXI века: Материалы II-й Открытой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. – Ульяновск, 2007. – С. 197 – 199.
97. Фомина, И.В. Влияние комплексов, созданных на основе молочнокислых бактерий и экзополисахаридов, на рост некоторых энтеробактерий / И.В. Фомина // Актуальные проблемы ветеринарной патологии сельскохозяйственных животных и птиц: Материалы Всероссийской научно-практической конференции посвященной памяти профессора, доктора медицинских наук Зыкина Л.Ф. – Саратов: Научная книга, 2008. – С. 54 – 55.
98. Фомина, И.В. Влияние комплексов, созданных на основе молочнокислых бактерий и экзополисахаридов, на рост сальмонелл / И.В. Фомина,

Л.В. Карпунина, Н.В. Стаценко // Материалы конференции по итогам научно-исследовательской и производственной работы студентов за 2011 г. – Саратов, 2011. – С. 15 – 17.

99. Фомина, И.В. Изменение микрофлоры толстой кишки мышей под действием бактериальных комплексов и экзополисахаридов / И.В. Фомина, Л.В. Карпунина // Санкт-Петербург – Гастро – 2011: Материалы 13-го Международного Славяно-Балтийского научного форума, Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2011. – № 2/3. – С. 97.

100. Фомина, И.В. Действие бактериальных комплексов на микрофлору толстого кишечника мышей / И.В. Фомина, Л.В. Карпунина // Известия Самарского научного центра РАН. – 2012. – Т.14, № 1. – С. 288 – 289.

101. Фокина, Н.А. Выделение экзополисахарида из *Lactococcus lactis* при различных условиях культивирования / Н.А.Фокина, Г.Т. Урядова, Л.В. Карпунина // Аграрный научный журнал. – 2016. – №12. – С. 40 – 42.

102. Фокина, Н.А. Характеристика экзополисахарида молочнокислого стрептококка / Н.А.Фокина, Г.Т. Урядова, Л.В. Карпунина // Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой: материалы VIII Всероссийской конференции молодых ученых 26-30 сентября 2016 г. – Саратов, 2016. – С. 127.

103. Фокина, Н.А. Физико-химические свойства экзополисахарида *Lactococcus lactis* / Н.А.Фокина, Г.Т. Урядова, Л.В. Карпунина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2017. – №2 (19). – С. 174 – 177.

104. Фокина, Н.А. Влияние условий культивирования на продукцию экзополисахарида *Streptococcus thermophilus* / Н.А. Фокина, Г.Т. Урядова, Л.В. Карпунина // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2018. – Т. 18, вып. 2. – С. 179 – 181.

105. Фокина, Н.А. Влияние бактериального экзополисахарида на морфологические и микробиологические показатели у птицы / Н.А Фокина,

- Г.Т. Урядова, Л.В. Карпунина // Таврический вестник аграрной науки. – 2019. – № 4(20). – С. 117– 123.
106. Фокина, Н.А. Экзополисахариды молочнокислых бактерий в заживлении ожоговых ран у крыс / Н.А. Фокина, Г.Т. Урядова, Н.Ю. Селиванов, Л.В. Карпунина // Аграрные конференции. – 2021. – № 3(27). – С. 26 – 32.
107. Хоулт, Дж. Определитель бактерий Берджи / Дж. Хоулт, Н. Криг, П. Смит [и др.]. – М.: Мир. – 1997. – Т. 2. – 368 с.
108. Хочава, А.И. Некоторые патогенетические аспекты пирогеналотерапии при вирусном гепатите / А.И. Хочава, В.С. Васильев, М.И. Богущкий // Вопросы экспериментальной и клинической гепатологии материалы респ. конференции УССР. – Тернополь, 1976. – С. 340 – 341.
109. Хочава, А.И. Влияние пирогеналотерапии на некоторые показатели неспецифической реактивности организма у больных вирусным гепатитом / А.И. Хочава, В.С. Васильев, М.И. Богущкий // Неспецифическая резистентность организма в клинике, лечении и профилактике важнейших инфекционных заболеваний: тезисы I республиканского съезда инфекционистов УССР. – Харьков, 1978. – С. 249 – 250.
110. Черешнев, В.А. Иммунофизиология / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков, В.Г. Клитин [и др.]. – Екатеринбург: УрО РАН, 2002. – 258 с.
111. Черний, В.И. Нарушения иммунитета при критических состояниях: особенности диагностики / В.И. Черний, А.Н. Нестеренко // Внутренняя медицина. – 2007. – № 2 (2). URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/516>
112. Чернин, В.В. Симбионтное пищеварение человека. Физиология, клиника, диагностика и лечение его нарушений / В.В. Чернин, А.И. Парфенов, В.М. Бондаренко [и др.]. – Тверь: Триада, 2013. – 232 с.
113. Шано, В.П. Эндотоксикоз, иммунный дистресс и полиорганные нарушения: Клинико-морфологическое обоснование терапии с позиций SIRS / В.П. Шано, В.И. Черний, А.Н. Нестеренко // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2001. – № 2 (д.). – С. 45 – 47.

114. Шапошников, А.А. Общие морфологические показатели крови крыс при лечении ран / А.А. Шапошников, Ю.А. Косовский, Г.Н. Ключкова [и др.] // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2015. – № 16 (213), Выпуск 31. – С. 163 – 67.
115. Шацких, Е.В. Пробиотический препарат «Простор» в кормлении цыплят-бройлеров / Е.В. Шацких, О.А. Шевкунов // Аграрный вестник Урала. – 2019. – №2 (181). – С. 36 – 41.
116. Шендеров, Б.А. Нормальная микрофлора и ее роль в поддержании здоровья человека / Б.А. Шендеров // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – № 1. – С. 61 – 65.
117. Шишкова, Ю.С. Влияние препарата «Пирогенал» на образование нейтрофильных внеклеточных ловушек / Ю.С. Шишкова, А.Ю. Савочкина, А.И. Рыжкова [и др.] // Медицинская наука и образование Урала. – 2009. – № 3. – С. 23 – 25.
118. Щерба, В.Л. Полисахарид ксилотрофных базидиомицетов / В.Л. Щерба, В.Г. Бабицкая // Прикладная биохимия и микробиология. – 2008. – Т. 44, № 1. – С. 90 – 95.
119. Amrouche, T. Effects of bifidobacterial cytoplasm peptide and protein fractions on mouse lymphocyte proliferation and cytokine production / T. Amrouche, Y. Boutin, I. Fliss // Food and Agricultural Immunology. – 2006. – N 17 (1). – P. 29 – 42.
120. Arai, K.I. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses / K.I. Arai, F. Lee, A. Miyajima [et al.] // Annual Review of Biochemistry. – 1990. – N 59. – P. 783 – 836.
121. Arena, A. Antiviral and immunoregulatory effect of a novel exopolysaccharide from a marine thermotolerant *Bacillus licheniformis* / A. Arena // International Immunopharmacology. – 2006 – V. 6. – P. 8 – 13.
122. Barlow, S. Introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. Opinion of the

Scientific Committee / S. Barlow, A. Chesson, J.D. Collins [et al.] // The EFSA Journal. – 2007. – N 587. – P. 1 – 16.

123. Beasley, S. Fermented soymilk with monoculture of *Lactococcus lactis* / S. Beasley, H. Tuorila, Per E. J. Saris // International Journal of Food Microbiology. – 2003. – V. 81 (2). – P. 159 – 162.

124. Beasley, S. Nisin-producing *Lactococcus lactis* strains isolated from human milk / S. Beasley, Per E. J. Saris // Applied and Environmental Microbiology. – 2004. – V. 70 (8). – P. 5051 – 5053.

125. Beasley, S. Isolation, identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota / S. Beasley // Doctoral dissertation. Doctoral Thesis. Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis, Helsinki, Finland. – 2004. – 31 p.

126. Benjamini, E. Immunology, a short course / E. Benjamini, G. Sunshine, S. Leskowitz. – WILEY-LISS, New York. – 1996. – P. 451 – 453.

127. Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micro-gram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. Bradford // Analytical Biochemistry. – 1976. – V. 72, N 1. – P. 248 – 254.

128. Broadbent, J.R. Biochemistry, genetics and application of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review / J.R. Broadbent, D.J. McMahon, D.L. Welker [et al.] // Journal of dairy science. – 2003. – N 86 (2). – P. 407 – 423.

129. Castro-Bravo, N. Interactions of surface exopolysaccharides from bifidobacterium and lactobacillus within the intestinal environment / N. Castro-Bravo, J.M. Wells, A. Margolles [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2018. – V. 9. – P. 2426.

130. Castro-Bravo, N. Exopolysaccharides synthesized by *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* interact with TLR4 in intestinal epithelial cells / N. Castro-Bravo, A. Margolles, J.M. Wells [et al.] // Anaerobe. – 2019. – V. 56. – P. 98 – 101.

131. Cerning, J. Polysaccharides exocellulaires produits par les bactéries lactiques / J. Cerning, I.H. Roissart, F.M. Luquet // *Bactéries Lactiques*. – 1994. – P. 309 – 329.
132. Cerning, J. Exopolysaccharides produced by dairy lactic acid bacteria / J. Cerning, V.M.E. Marshall // *Recent Results Develop. Microbiol.* – 1999. – N 3. – P. 195 – 209.
133. Chabot, S. Exopolysaccharide from *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M stimulate TNF, IL-6 and IL-12 in human and mouse cultured immunocompetent cells, and IFN- $\gamma$  in mouse splenocytes / S. Chabot, H. Yu, L. De L'es'eleuc [et al.] // *Lait*. – 2001. – N 81. – P. 683 – 697.
134. Chen, Y.-T. Antitumor activity of bacterial exopolysaccharides from the endophyte *Bacillus amyloliquefaciens* sp. isolated from *Ophiopogon japonicus* / Y.-T. Chen, Q. Yuan, L.E.-T. Shan [et al.] // *Oncology letters*. – 2013. – V. 5, N 6. – P. 1787 – 1792.
135. Čilerdžić, Jasmina Lj. *Ganoderma lucidum* – from tradition to modern medicine / Jasmina Lj. Čilerdžić, Mirjana M. Stajić, Jelena B. Vukojević // *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*. – 2017. – N 133. – P. 151 – 161.
136. Cleary, J.A. The effect of molecular weight and  $\beta$ -1,6-linkages on priming of macrophage function in mice by (1,3)- $\beta$ -D-glucan / J.A. Cleary, G.E. Kelly, A.J. Husband // *Immunology and Cell Biology*. – 1999. – V. 77. – P. 395 – 403.
137. Coconnier, M.H. Antibacterial effect of the adhering human *Lactobacillus acidophilus* strain LB / M.H. Coconnier, V. Lievin, M.F. Bernet-Camard [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 1997. – V. 41, N 5. – P. 1046 – 1052.
138. Corroler, D. An ecological study of lactococci isolated from raw milk in the camembert cheese registered designation of origin area / D. Corroler, I. Manguin, N. Desmasures [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1998. – N 64. – P. 4729 – 4735.
139. Degeest, B. Microbial physiology, fermentation kinetics, and process engineering of heteropolysaccharide production by lactic acid bacteria /

- B. Degeest, F. Vaningelgem, L. De Vuyst // *International Dairy Journal*. – 2001. – N 11. – P. 747 – 757.
140. De Vuyst, L. Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria / L. De Vuyst, F. De Vin, F. Vaningelgem [et al.] // *International Dairy Journal*. – 2001. – N 11 (9). – P. 687 – 707.
141. Dubois, M. Colorimetric method for determination of sugars and related substances / M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton [et al.] // *Analytical Chemistry*. – 1956. – V. 28. – P. 350 – 356.
142. Edwards, C.A. Intestinal flora during the first months of life: new perspective / C.A. Edwards, A.M. Parret // *British Journal of Nutrition*. – 2002. – N 88 (11). – P. 11 – 18.
143. Falch, B.H. The cytokine stimulating idivity of (1→3)-beta-D-glucans is dependent on the triple helix conformation / B.H. Falch, T. Espevik, L. Ryan [et al.] // *Carbohydrate Research*. – 2000. – V. 329, N 3. – P. 587 – 596.
144. Fernandes, C.F. Mode of tumor suppression by *Lactobacillus acidophilus* / C.F. Fernandes // *Journal of Dairy Science*. – 1987. – V. 70, N 1. – P. 82 – 91.
145. Flemming, H.C. The biofilm matrix / H.C. Flemming, J. Wingender // *Nature Reviews Microbiology*. – 2010. – N 8. – P. 623 – 633.
146. Food and Drug Administration (FDA). Generally Recognized as Safe (GRAS). Microorganisms & Microbial-Derived Ingredients Used in Food (Partial List) [Electronic resource]. – 2018. – Mode of access: <https://www.fda.gov/food/generally-recognized-safe-gras/microorganisms-microbial-derived-ingredients-used-food-partial-list>
147. Golowczyc, M.A. Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica serovar Enteritidis* / M.A. Golowczyc, P. Mobili, G.L. Garrote [et al.] // *International Journal of Food Microbiology*. – 2007. – V. 118, N 3. – P. 264 – 273.

148. Gorbach, S.L. Probiotics in the third millennium / S.L. Gorbach // *Digest Liver Dis.* – 2002. – N 34 (Suppl. 21). – P. 2 – 7.
149. Grimbaldston, M.A. Mast cell-derived interleukin 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet B / M.A. Grimbaldston, S. Nakae, J. Kalesnikoff [et al.] // *Nature Immunology.* – 2007. – N 8. – P. 1095 – 1104.
150. Gugliandolo, C. Role of bacterial exopolysaccharides as agents in counteracting immune disorders induced by herpes virus / C. Gugliandolo, A. Spanò, T.L. Maugeri [et al.] // *Microorganisms.* – 2015. – V. 3, N 3. – P. 464 – 483.
151. Gummadi, S.N. Production of extracellular water insoluble  $\beta$ -1,3-glucan (curdlan) from *Bacillus sp.* SNC07 / S.N. Gummadi, K. Kumar // *Biotechnology and Bioprocess Engineering.* – 2005. – V. 10. – P. 546 – 551.
152. Hall, B. Strategies of obligate intracellular parasites for evading host defences / B. Hall, K. Joiner // *Immunology Today.* – 1991. – V. 12. – P. 22 – 27.
153. Heinze, T. Esterification of polysaccharides / T. Heinze, T. Liebert, A. Koschella // *Journal of Applied Microbiology.* – 2006. – N 4. – P. 213 – 232.
154. Hosono, A. Characterization of a water-soluble polysaccharide fraction with immunopotentiating activity from *Bifidobacterium adolescentis* M101-4 / A. Hosono, J. Lee, A. Ametani [et al.] // *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry.* – 1997. – V. 61. – P. 312 – 316.
155. Im, S.-A. Activation of macrophages by exopolysaccharide produced by MK1 bacterial strain isolated from *Neungee mushroom, Sarcodon aspratus* / S.-A. Im, W. Wang, Ch.-K. Lee [et al.] // *Immune Netw.* – 2010. – N 10 (6). – P. 230 – 238.
156. Inamine, A. Sublingual administration of *Lactobacillus paracasei* KW3110 inhibits Th2-dependent allergic responses via upregulation of PD-L2 on dendritic cells / A. Inamine, D. Sakurai, S. Horiguchi [et al.] // *Clinical Immunology.* – 2012. – N 143 (2). – P. 170 – 179.

157. Jones, S.E. Protection from intestinal inflammation by bacterial exopolysaccharides / S.E. Jones, M.L. Paynich, D.B. Kearns [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2014. – V. 192, N 10. – P. 4813 – 4820.
158. Jung, H.-K. Production and physicochemical characterization of  $\beta$ -glucan by *Panibacillus polymyxa* JB 115 / H.-K. Jung, J.-H. Hong, S.-C. Park [et al.] // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. – 2007. – V. 12. – P. 713 – 719.
159. Kankainen, M. Comparative genomic analysis *Lactobacillus rhamnosus* GG / M. Kankainen, L. Paulin, S. Tynkkynen [et al.] // *Journal of Applied Microbiology*. – 2005. – T. 40, N 11. – P. 171 – 183.
160. Kanmani, P. Exopolysaccharides from *Lactobacillus delbrueckii* OLL1073R-1 modulate innate antiviral immune response in porcine intestinal epithelial cells / P. Kanmani, L. Albarracin, H. Kobayashi [et al.] // *Molecular Immunology*. – 2018. – V. 93. – P. 253 – 265.
161. KELCOGEL® Gellan Gum// CPKelco [Electronic resource]. – 2016. – Mode of access:<http://www.cpkelco.com/marketserved/household>.
162. Kitazawa, H. Induction of IFN-gamma and IL-1alpha production in macrophages stimulates with phosphopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis ssp. cremoris* / H. Kitazawa, T. Itoh, Y. Tomioka [et al.] // *International Journal of Food Microbiology*. – 1996. – V. 31. – P. 99 – 106.
163. Kitazawa, H. Phosphate group requirement for mitogenic activation of lymphocytes by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* / H. Kitazawa, J. Nishimura, T. Harata [et al.] // *International Journal of Food Microbiology*. – 1998. – N 40. – P. 169 – 175.
164. Kitazawa, H. Augmentation of macrophage functions by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* / H. Kitazawa, Y. Ishii, J. Uemura [et al.] // *Food Microbiology*. – 2000. – N 17. – P. 109 – 118.
165. Kitazawa, H. Antitumoral activity of slime-forming encapsulated *Lactococcus lactis subsp. cremoris* isolated from Scandinavian ropy sour milk, «viili» /

- H. Kitazawa, T. Toba, T. Itoh [et al.] // *Animal Feed Science and Technology*. – 1991. – V. 62. – P. 277 – 283.
166. Leibovich, S.J. Promotion of wound repair in mice by application of glucan / S.J. Leibovich, D. Danon // *Journal Reticuloendothel Soc.* – 1980. – V. 1. – P. 1 – 11.
167. Lemaitre, B. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *drosophila* adults / B. Lemaitre, E. Nicolas, L. Michautet [et al.] // *Cell*. – 1996. – V. 86, Issue 6. – P. 973 – 983.
168. Leung, M.Y.K. Polysaccharide biological modifiers / M.Y.K. Leung, C. Liu, J.C.M. Koon, K.P. Fung // *Immunology Letters*. – 2006. – V. 105, N 2. – P. 101 – 114.
169. Ley, R.E. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity / R.E. Ley, P.J. Turnbaugh, S. Klein [et al.] // *Nature*. – 2006. – N 444 (7122). – P. 1022 – 1023.
170. Lloyd, L.L. Carbohydrate polymers as wound management aids / L.L. Lloyd, J.F. Kennedy, P. Methacanon [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 1998. – V. 37, N 3. – P. 315 – 322.
171. Makino, S. Immynomodulatory effects of polysaccharides produced by *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* OLL 1073R-1 / S. Makino, S. Ikegami, H. Kano // *Journal of Dairy Science*. – 2006. – V. 89, Issue 8. – P. 2873 – 2881.
172. Marschan, E. Probiotics in infancy induce protective immune profiles that are characteristic for chronic low-grade inflammation / E. Marschan, M. Kuitunen, K. Kekkonen [et al.] // *Clin. Exp. Allergy*. – 2008. – N 38. – P. 611 – 618.
173. Marshall, V. Exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria cluster into groups according to the their EPS structure / V. Marshall, Y. Laws Gu, F. Levander [et al.] // *Letters in Applied Microbiology*. – 2001. – N 32 (6). – P. 433 – 440.

174. Marteau, P. Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man / P. Marteau, J. Rambaud // *Microbiology*. – 1993. – V. 12. – P. 207 – 220.
175. Maver, T. Polysaccharide thin solid films for analgesic drug delivery and growth of human skin cells / T. Maver, T. Mohan, L. Gradišnik [et al.] // *Front Chem*. – 2019. – N 7. – P. 217 – 214.
176. Mizuno, H. Exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* ST538 modulate the antiviral innate immune response in porcine intestinal epitheliocytes / H. Mizuno, K. Tomotsune, M.A. Islam [et al.] // *Front Microbiol*. – 2020. – N 11. – P. 894.
177. Mei, H.-C. Immunomodulatory activity lactis A17 from Taiwan fermented cabbage in OVA-Sensitized BALB/c mice / Mei H.-C., Liu Y.-W., Chiang Y.-C. [et al.] // *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. – 2013. – N 8, part 2. – Article ID 287803. – 11 p.
178. Montersino, S. Evaluation of exopolysaccharide production by *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from wine / S. Montersino, A. Prieto, R. Munoz [et al.] // *Journal of Food Science*. – 2008. – N 73 (4). – P. 196 – 205.
179. Musso, G. Obesity, diabetes, and gut microbiota / G. Musso, R. Gambino, M. Cassader // *Diabetes Care*. – 2010. – N 33. – P. 2277 – 2284.
180. Nagaoka, M. Anti-ulcer effects of lactic acid bacteria and their cell wall polysaccharides / M. Nagaoka, S. Hashimoto, T. Watanabe [et al.] // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. – 1994. – V. 17. – P. 1012 – 1017.
181. Nakajima, H. Cholesterol lowering activity of ropy fermented milk / H. Nakajima, Y. Suzuki, T. Hirota // *Journal of Food Science*. – 1992. – V. 57. – P. 1327 – 1329.
182. Nami, Y. Probiotic assessment of *Enterococcus durans* 6HL and *Lactococcus lactis* 2HL isolated from vaginal microflora / Y. Nami, Norhafizah Abdullah, Babak Haghshenas [et al.] // *Journal of Medical Microbiology*. – 2014. – V. 63. – P. 1044 – 1051.

183. Nishimura-Uemura, J. Functional alteration of murine macrophages stimulated with extracellular polysaccharides from *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* OLL1073R-1 / J. Nishimura-Uemura, E. Kleerebezem, B. Sralowska // Food Microbiology. – 2003. – N 20. – P. 267 – 273.
184. Nonaka, Y. Anti-tumor activities of the antlered form of *Ganoderma lucidum* in allogeneic and syngeneic tumor-bearing mice / Y. Nonaka, H. Shibata, M. Nakai [et al.] // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. – 2006. – V. 70 – P. 2028 – 2034.
185. Nonaka, Y. Antiallergic effects of *Lactobacillus pentosus* strain S-PT84 mediated by modulation of Th1/Th2 immunobalance and induction of IL-10 production / Y. Nonaka, T. Izumo, F. Izumi [et al.] // International Archives of Allergy and Immunology. – 2008. – N 145 (3). – P. 249 – 257.
186. Oh, M.H. Antiviral activity of *Lactobacillus* spp. and polysaccharide / M.H. Oh, S.G. Lee, S. Paik // Journal of Bacteriology and Virology. – 2010. – N 140. – P. 145 – 150.
187. Oksaharju, A. Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* downregulates FCER1 and HRH4 expression in human mast cells / A. Oksaharju, M. Kankainen, R.A. Kekkonen [et al.] // World J. Gastroenterology. – 2011. – N 17 (6). – P. 750 – 759.
188. Pailin, T. Detection of extracellular proteinase in EPS-producing lactic acid bacteria cultures on skim milk agar / T. Pailin, D.H. Kang, K. Schmidt [et al.] // Letters in Applied Microbiology. – 2001. – V. 33, Issue 1. – P. 44 – 49.
189. Pat. 03102204 WIPO, Int C 12 P 19/04; Eur: A 23 C 9/123 H. Novel *Streptococcus thermophilus* strains producing stable high-molecular-mass exopolysaccharides / De Vuyst L., Vaningelgem F. – 11.12.2003.
190. Pidoux, M. Characterization of the polysaccharides from a *Lactobacillus brevis* and from sugari kefir grains / M. Pidoux, J.M. Brillionet, B. Qwemener // Biotechnology Journal. – 1988. – V. 10. – P. 415 – 420.

191. Pigeon, R.M. Binding of free bile acids by cells of yogurt starter culture bacteria / R.M. Pigeon, E.P. Cuesta, S.E. Gilliland // *Journal of Dairy Science*. – 2002. – V. 85. – P. 2705 – 2710.
192. Poltorak, A. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene / A. Poltorak, X. He, I. Smirnova [et al.] // *Science*. – 1998. – V. 282. – P. 2085 – 2088.
193. Puneeth Kumar, C.L. Bifidobacteria for life betterment / C.L. Puneeth Kumar, Y. Sushma Saroja, D.J. Mukesh Kumar [et al.] // *World Applied Sciences Journal*. – 2012. – N 17 (11). – P. 1454 – 1465.
194. Rachmilevitz, D. Toll-like receptor 9 signaling mediates the antiinflammatory effect of probiotics murine experimental colitis / D. Rachmilevitz, K. Katakura, F. Karmeli [et al.] // *Gastroenterol.* – 2004. – N 126 (2). – P. 520 – 528.
195. Rakoff-Wahoum, S. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis / S. Rakoff-Wahoum, J. Paglino, V. F. Esmali [et al.] // *Cell*. – 2004. – N 118 (2). – P. 229 – 241.
196. Resta-Lenert, S. Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection / S. Resta-Lenert, K. E. Barrett // *Gut*. – 2003. – V. 52, N 7. – P. 988 – 997.
197. Ricciardi, A. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Structure, production and technological applications / A. Ricciardi, F. Clementi // *Italian Journal of Food Science*. – 2000. – V. 12. – P. 22 – 45.
198. Roca, C. Exopolysaccharides enriched in rare sugars: bacterial sources, production, and applications / C. Roca, V. D. Alves, F. Freitas [et al.] // *Frontiers in microbiology*. – 2015. – V. 6. – P. 288 – 291.
199. Rodríguez, C. Prevention of chronic gastritis by fermented milks made with exopolysaccharide – producing *Streptococcus thermophilus* strains / C. Rodríguez, M. Medici, A.V. Rodríguez [et al.] // *Journal of Dairy Science*. – 2009. – V. 92. – P. 2423 – 2434.

200. Ruiz-Bravo, A. Biological response modifier activity of an exopolysaccharide from *Panibacillus jamilae* CP-7 / A. Ruiz-Bravo, M. Jimenez-Valera, E. Moreno [et al.] // *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. – 2001. – V. 8, N 4. – P. 706 – 710.
201. Salazar, N. Exopolysaccharides Produced by Intestinal Bifidobacterium Strains Act as Fermentable Substrates for Human Intestinal Bacteria / N. Salazar, M. Gueimonde, A. M. Hernánde z-Barranco [et al.] // *Applied and environmental microbiology*. – 2008. – V. 74, N 15. – P. 4737 – 4745.
202. Salazar, N. Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria as Fermentable Substrates by the Intestinal Microbiota / N. Salazar, C.G. De los Reyes-Gavilán, M. Gueimonde [et al.] // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2016. – V. 56, Issue 9. – P. 1440 – 1453.
203. Sandford, P.A. Microbial polysaccharides: new products and their commercial application / P.A. Sandford, I.W. Cottrell, D.J. Pettitt // *Pure and Applied Chemistry*. – 1984. – V. 56, N 7. – P. 879 – 892.
204. Sreekumar, O. The antimutagenic properties of a exopolysaccharide produced by *Bifidobacterium longum* and its cultured milk against some heterocyclic amines / O. Sreekumar, A. Hosono // *Canadian Journal of Microbiology*. – 1998. – N 44. – P. 1029 – 1036.
205. Schiffrin, E.J. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria / E.J. Schiffrin, F. Rochat, H. Link-Amster [et al.] // *Journal of Dairy Science*. – 1995. – V. 78. – P. 491 – 497.
206. Schuler, G. Murine epidermal Langerhans cells mature into potent immunostimulatory dendritic cells in vitro / G. Schuler // *Journal of Experimental Medicine*. – 1985. – V. 161. – P. 526 – 546.
207. Steinman, R.M. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice: I. Morphology, Quantitation, Tissue Distribution / R.M. Steinman // *Journal of Experimental Medicine*. – 1973. – V. 137. – P. 1142 – 1162.

208. Steinman, R.M. Lymphoid dendritic cells are potent stimulators of the primary mixed leukocyte reaction in mice / R.M. Steinman, M.D. Witmer // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1978. – V. 75. – P. 5132 – 5136.
209. Sutherland, I.W. Novel and established applications of microbial polysaccharides / I.W. Sutherland // Trends Biotechnology. – 1998. – V. 16. – P. 41 – 46.
210. Thapa, D. Antimutagenic property of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria / D. Thapa, Z. Hao // International probiotic conference. – 2008. – N 5. – P. 123 – 129.
211. Thapa, D. *Lactobacillus rhamnosus* exopolysaccharide reduces mutagenic potential of genotoxins / D. Thapa, H. Zhang // International Journal of Probiotics and Prebiotics. – 2009. – V. 4, N 3. – P. 79 – 82.
212. Thomas, L.V. Nisin / L.V. Thomas, M.R. Clarkson, J. Delves-Broughton // Natural food antimicrobial systems. – Ed. Naidu A. S., CRC Press, Boca Raton, Florida, 2000. – P. 463 – 524.
213. Van Rijt, L.S. Dendritic cells in asthma: a function beyond sensitization / L.S. Van Rijt, B.N. Lambrecht // Clinical & Experimental Allergy. – 2005. – N 35. – P. 1125 – 1134.
214. Valyasevi, R. *Lactococcus lactis subsp. lactis* C2 bacteriophage sk1 involves rhamnose and glucose moieties in the cell wall / R. Valyasevi, W.E. Sandine // Journal of Dairy Science. – 1994. – V. 77. – P. 1 – 6.
215. Vasiliu, S. Microbial Exopolysaccharides for Biomedical Applications / S. Vasiliu, S. Racovita, M.-A. Lungan [et al.] // Frontiers in Biomaterials: Unfolding the Biopolymer Landscape. – Sharjah: Bentham Science Publishes UAE. – 2016. – V. 2. – P. 180 – 238.
216. Veckman, V. *Streptococcus pyogenes* and *Lactobacillus rhamnosus* differentially induce maturation and production of th1-type cytokines and chemokines in human monocyte-derived dendritic cells / V. Veckman, M.

- Miettinen, J. Pirhonen [et al.] // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2004. – N 75. – P. 764 – 771.
217. Vinderola, G. Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* on the gut mucosal immunity / G. Vinderola, G. Perdígón, J. Duarte [et al.] // *Cytokine*. – 2006. – N 36 (5-6). – P. 254 – 260.
218. Vningelgem, F. Biodiversity of exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* strains Is reflected in their production and their molecular and functional characteristics / F. Vningelgem, M. Zamfir, F. Mozzi [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2004. – N 70. – P. 900 – 912.
219. Wang, S.Y. The anti-tumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes / S.Y. Wang, M.L. Hsu, H.C. Hsu [et al.] // *The International Journal of Cancer*. – 1997. – N 70 (6). – P. 699 – 705.
220. Welman, A.D. Screening and selection of exopolysaccharide-producing strains of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* / A.D. Welman, I.S. Maddox, R.H. Archer // *Journal of Applied Microbiology*. – 2003. – V. 95. – P. 1200 – 1206.
221. Xu, Y. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and Bifidobacteria: Structures, physiochemical functions and applications in the food industry / Y. Xu, Y. Cui, F. Yue [et al.] // *Food Hydrocolloids*. – 2019. – V. 94. – P. 475 – 499.
222. Yaeshima, T. Benefits of bifidobacteria to human health / T. Yaeshima // *Bulletin of the International Dairy Federation*. – 1996. – N 313. – P. 36 – 42.
223. Yerlikaya, O. Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis ssp. lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains / O. Yerlikaya // *Journal of Dairy Science*. – 2019. – V. 102, Issue 1. – P. 124 – 134.

224. Yoshida, A. Oral administration of live *Lactococcus lactis* C59 suppresses IgE antibody production in ovalbumin-sensitized mice via the regulation of interleukin-4 production / A. Yoshida, R. Aoki, H. Kimoto-Nira [et al.] // FEMS Immunology and Medical Microbiology. – 2011. – N 61 (3). – P. 315 – 322.
225. Zhang, D. Mimicking skin cellulose hydrogels for sensor applications / D. Zhang, J. Jian, Y. Xie [et al.] // Chemical Engineering Journal. – 2021. – V. 427. – Article 130921.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**



ООО «Рыбный Дом»  
 тел. +7-9272-777-699, e-mail: info@u-z.ru  
 ю/а: 410031, г. Саратов, ул. Мичурина, 150/154;  
 п/а: 410002, г. Саратов, ул. Мичурина, 150/154;  
 ИНН / ОГРН: 6441024246 / 1196451014374;  
 КПП: 64501001  
 ПОВОЛЖСКИЙ БАНК ПАО СБЕРБАНК  
 р/с 40702810356000003950;  
 к/с 30101810200000000607;  
 БИК 043601607

Исх.№ 5 от 11.04.2022 г.

г. Саратов  
 ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ

Акт о внедрении результатов  
 диссертационной работы аспиранта кафедры «Микробиология,  
 биотехнология и химия» факультета ветеринарной медицины, пищевых и  
 биотехнологий ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ Урядовой Галины Тимофеевны  
 (научный руководитель – Карпунина Л.В., д.б.н., профессор, профессор  
 кафедры микробиологии, биотехнологии и химии)

Способ выращивания рыб (ленского осетра) при кормлении их экзополисахаридом молочнокислых бактерий *Streptococcus thermophiles* при котором увеличивается прирост ихтиомассы рыб и уменьшается расход корма представляет интерес к внедрению в производство. Предложенная технология может быть использована ООО «Рыбный дом» в реализации новых перспективных проектов.

Директор  
 ООО «Рыбный дом»



Конищев И.В.

Общество с Ограниченной Ответственностью  
«Тепловский рыбоводпитомник»

---

ИНН 6421003583 ОГРН 1186451009744  
412587, Саратовская область, Новобурасский район, с. Тепловка,  
ул. Советская, д. 38, к. 1

ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ

Акт о внедрении результатов  
диссертационной работы аспиранта кафедры «Микробиология,  
биотехнология и химия» факультета ветеринарной медицины, пищевых и  
биотехнологий ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ Урядовой Галины Тимофеевны  
(научный руководитель – Карпунина Л.В., д.б.н., профессор, профессор  
кафедры микробиологии, биотехнологии и химии)

Способ выращивания рыб (ленского осетра) при кормлении их  
экзополисахаридом молочнокислых бактерий *Streptococcus thermophilus* при  
котором увеличивается прирост ихтиомассы рыб и уменьшается расход  
корма представляет интерес к внедрению в производство. Предложенная  
технология может быть использована ООО «Тепловский рыбоводпитомник» в  
реализации новых перспективных проектов.

Директор

ООО «Тепловский рыбоводпитомник»



И. М. Торбин