

УДК 579.852.11:579.62

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНИМАЛЬНЫХ ПОДАВЛЯЮЩИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ СОЛЕЙ СВИНЦА НА РОСТ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS*

Данжук А.А., Миндолина Ю.В., Сизенцов Я.А.

ФГБОУ ВО Оренбургский государственный университет,

Оренбург, e-mail: danzhuk.anna@mail.ru

В статье представлены данные свидетельствующие о токсическом влиянии всех исследуемых солей свинца не зависимо от анионного компонента в отношении изучаемых пробиотических штаммов, что собственно подтверждает то что свинец по природе является токсичным металлом. Наиболее выраженным токсическим эффектом в отношении исследуемых микроорганизмов обладает ацетат свинца. Однако значения зон подавления роста, которых, незначительно превысили значения нитрата свинца для изучаемых пробиотических штаммов. Далее было установлено, что в отношении нитрат свинца наименее резистентными оказались штаммы *B. amyloliquefaciens* 10643, а по отношению к ацетату свинца *B. amyloliquefaciens* 10642, соответственно.

**Ключевые слова:** *Bacillus*, свинец, минимальные подавляющие концентрации

## STUDY OF THE TOXIC INFLUENCE OF CATIONS OF HEAVY METALS ON THE OPTIONAL-ANAEROBIC MICROFLORA OF INTESTINE RATS

Danzhuk A.A., Mindolina Yu.V., Sizensov Ya.A.

FGBOU V Orenburg State University, Orenburg, e-mail: danzhuk.anna@mail.ru

The data on the toxic effect of all the lead salts studied are presented, irrespective of the anion component in the studied probiotic strains, which actually confirms that lead is a toxic metal by nature. Lead toxin has the most pronounced toxic effect on the microorganisms under study. However, the values of the growth inhibition zones, which slightly exceeded the values of lead nitrate for the studied probiotic strains. It was further found that, in the case of lead nitrate, the strains of *B. amyloliquefaciens* 10643 were the least resistant, and that of *B. amyloliquefaciens* 10642, respectively, in lead acetate.

**Keywords:** *E. faecalis*, *E. cloacae*, *E. coli*, *L. acidophilus*, heavy metals, minimal inhibitory concentrations, growth phases

Соединения свинца известны своей высокой токсичностью [1, 2]. Индивидуальная восприимчивость к отравлению свинцом сильно различается, и одни и те же дозы свинца могут давать больший или меньший эффект для разных людей. Характерными симптомами отравления являются бледность лица, потеря внимания, плохой сон, склонность к частой смене настроения, повышенная раздражительность, агрессивность, быстрая утомляемость, а также металлический привкус во рту. Характерные расстройства пищеварения, потеря аппетита, острые боли в животе со спазмами абдоминальных мускулов («свинцовые колики»). Обычным является изменение состава крови – от ретикулоцитоза, анизоцитоза и микроцитоза до свинцовой анемии. На более поздних стадиях наблюдаются головная боль, головокружение, потеря ориентации и проблемы со зрением. Специфическое почернение («свинцовая линия») может появиться у основания десен. Возможен паралич («свинцовые судороги»), обычно затрагивающий в первую очередь пальцы и кисти рук. У детей может быть поврежден

головной мозг, что может привести к слепоте или глухоте или даже летальному исходу. Повреждения коры больших полушарий возможны и у взрослых после получения больших доз свинца. Свинец поступает в организм из загрязненного воздуха, почвы, пыли в жилых помещениях и на улице, продуктов питания, а также при недостаточном соблюдении правил личной гигиены. Оценка риска отравления свинцом, как правило, проводится на основании определения концентрации свинца в крови. Концентрация свинца в крови ниже 10 мкг/дл в России и в мире считается безопасной для здоровья ребенка, хотя даже поступление в организм небольших доз свинца в зависимости от продолжительности и интенсивности может сказаться на здоровье [3].

Известно, что способность концентрировать металлы, в том числе и тяжелые, очень широко распространена в природе среди различных организмов. Настоящими «рекордсменами» по извлечению тяжелых металлов из окружающей среды являются микроорганизмы. Накоплено множество данных, позволяющих считать, что микро-

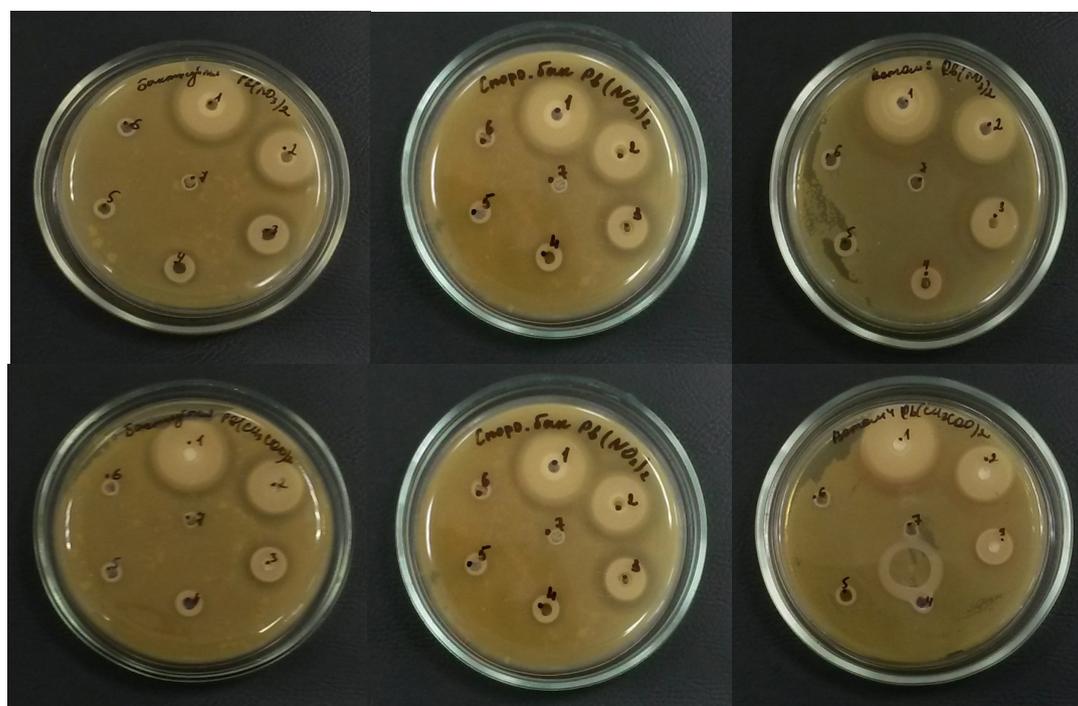
флора желудочно-кишечного тракта играет важную роль детоксикации отдельных эндогенных и экзогенных веществ, в регуляции сорбции и экскреции таких элементов, как Na, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mn, Mo и другие [4].

Большой интерес вызывает изучение данной способности среди микроорганизмов, входящих в состав пробиотических препаратов. Пробиотики обладают такими свойствами как ярко выраженная антагонистическая активность в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, высокая ферментативная активность, иммуностимулирующее действие. Но помимо этого важным свойством является антитоксическое действие, проявляющееся в накоплении и активном выведении тяжелых металлов из организма. Из этого следует,

что оценка эффективности применения пробиотиков при отравлении тяжелыми металлами является актуальным вопросом исследования [5].

Выше изложенное является критерием для изучения влияния свинца на рост микроорганизмов (рисунок 1).

Для реализации поставленной задачи в качестве объектов исследования нами были использованы 6 пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus*: Споробактерин (*B. subtilis* 534), Бактисубтил (*B. cereus* IP 5832), Ветом 1.1 (*B. subtilis* 10641), Ветом 2 (*B. licheniformis* 7038), Ветом 3 (*B. amyloliquefaciens* 10642), Ветом 4 (*B. amyloliquefaciens* 10643). В качестве регулирующих факторов в работе использовались различные соли (нитраты, хлориды, ацетаты и оксиды) свинца.



1 2 3  
 Влияние  $Pb(NO_3)_2$  и  $Pb(CH_3COO)_2$  на рост исследуемых микроорганизмов:  
 1 – *B. cereus* IP 5832, 2 – *B. subtilis* 534, 3 – *B. amyloliquefaciens* 10643

Для выполнения данного этапа работы использовали метод агаровых лунок, выбор данного метода объясняется тем, что он позволяет не только визуально, но и качественно оценить влияние тяжелых металлов на рост исследуемых микроорганизмов.

Методика выполнения заключается в следующем: изучаемый микроорганизм высевали сплошным «газоном» на поверх-

ность агаровой пластинки (1,5% МПА) в чашке Петри. После этого, пробочным сверлом (диаметр 5 мм) вырезали агаровые блочки, при этом на одной чашке Петри можно разместить до 7 агаровых лунок в которые в последующем вносили исследуемые концентрации веществ для оценки их ингибирующего и субингибирующего эффекта. Чашки помещали в термостат на 24 часа

при температуре 37 °С (благоприятной для развития исследуемого тест-организма). После инкубирования производили визуальную оценку действия исследуемого металла на рост популяции. Отсутствие зон подавления роста свидетельствовало о отсутствии влияния либо соли в целом (как правило данное явление отмечалось у солей с низки уровнем диссоциации), либо определенной концентрации (именно такие концентрации в дальнейшем использовались в качестве рабочих). В том случае если исследуемое вещество обладало высокой активностью в отношении исследуемого микроорганизма

регистрировали значительные зоны подавления роста вокруг лунки.

Было установлено, что высокие концентрации свинца не оказывают бактерицидного эффекта на пробиотические штаммы, однако основным отличием является то, что данный элемент в отличие от кадмия практически не влияет на рост, но при этом отмечается изменение не только макроморфологических характеристик культуры клеток вблизи лунки, но также изменяются и морфологические характеристики исследуемых микроорганизмов (см. табл.).

Оценка влияния солей свинца на рост бактерий рода *Bacillus*

|                                      | <i>B. licheniformis</i> 7048 |           |           |            |            |
|--------------------------------------|------------------------------|-----------|-----------|------------|------------|
|                                      | 1 Моль                       | 0,5 Моль  | 0,25 Моль | 0,125 Моль | 0,063 Моль |
| Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>    | 31,0±1,00                    | 27,3±0,33 | 20,3±0,67 | 15,7±0,33  | 7,0±1,45   |
| Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | 32,0±0,00                    | 27,0±1,00 | 20,7±1,67 | 12,3±0,33  | 9,1±1,88   |
| <i>B. cereus</i> 5832                |                              |           |           |            |            |
| Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>    | 30,3±0,33                    | 25,3±0,67 | 19,3±0,33 | 10,7±1,20  | 7,3±0,33   |
| Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | 32,3±0,33                    | 22,3±1,45 | 14,0±1,53 | 9,7±0,33   | 7,7±0,33   |
| <i>B. subtilis</i> 534               |                              |           |           |            |            |
| Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>    | 30,0±0,00                    | 26,0±0,58 | 17,0±0,58 | 9,7±0,33   | 7,0±0,58   |
| Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | 32,0±0,58                    | 25,3±0,33 | 13,3±0,88 | 10,3±0,33  | 6,7±0,33   |
| <i>B. amyloliquefaciens</i> 10642    |                              |           |           |            |            |
| Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>    | 36,0±0,58                    | 27,7±1,20 | 24,7±2,19 | 10,7±0,33  | 7,3±0,33   |
| Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | 38,7±0,33                    | 30,3±0,88 | 23,3±0,88 | 10,3±0,33  | 7,0±0,58   |
| <i>B. subtilis</i> 10641             |                              |           |           |            |            |
| Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>    | 23,7±0,33                    | 18,7±0,33 | 14,7±0,33 | 9,7±0,33   | 6,7±0,33   |
| Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | 23,3±0,33                    | 19,3±0,33 | 13,0±0,58 | 9,7±0,33   | 6,7±0,33   |
| <i>B. amyloliquefaciens</i> 10643    |                              |           |           |            |            |
| Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>    | 37,3±1,45                    | 30,3±0,88 | 20,0±2,89 | 10,7±0,33  | 6,7±0,33   |
| Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | 31,7±1,67                    | 22,3±0,33 | 13,3±0,33 | 8,7±0,88   | 5,7±0,67   |

Полученные данные свидетельствуют о токсическом влиянии всех исследуемых солей свинца не зависимо от анионного компонента в отношении изучаемых пробиотических штаммов, что собственно подтверждает то что свинец по природе является токсичным металлом.

Наиболее выраженным токсическим эффектом в отношении исследуемых микроорганизмов обладает ацетат свинца. Однако значения зон подавления роста, которых, незначительно превысили значения нитрата свинца для изучаемых пробиотических штаммов

Далее было установлено, что в отношении нитрат свинца наименее резистентными оказались штаммы *B. amyloliquefaciens*

10643, а по отношению к ацетату свинца *B. amyloliquefaciens* 10642, соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о токсическом влиянии всех исследуемых солей свинца не зависимо от анионного компонента в отношении изучаемых пробиотических штаммов, что собственно подтверждает то что свинец по природе является токсичным металлом.

Наиболее выраженным токсическим эффектом в отношении исследуемых микроорганизмов обладает ацетат свинца. Однако значения зон подавления роста, которых, незначительно превысили значения нитрата свинца для изучаемых пробиотических штаммов.

Далее было установлено, что в отношении нитрат свинца наименее резистентными оказались штаммы *B. amyloliquefaciens* 10643, а по отношению к ацетату свинца *B. amyloliquefaciens* 10642, соответственно.

**Список литературы**

1. Sizontov, A. The use of probiotic preparations on basis of bacteria of a genus *Bacillus* during intoxication of lead and zinc / A. Sizontov, O. Kvan, A. Vishnyakov, A. Babushkina, E. Drozdova // Life Science Journal 2014; 11 (10). <http://www.lifesciencesite.com>

2. Сальникова, Е.В. Оценка загрязненности Оренбургской области свинцом и кадмием и перспективы использования пробиотиков для снижения ксенобиотической нагрузки / Е.В. Сальникова, А.Н. Сизенцов // Современные проблемы науки и образования. 2016 № 5

3. Сизенцов, А.Н. Применение пробиотических препаратов при интоксикации свинцом / Сизенцов А.Н. // Вестник ветеринарии. 2012. Т. 63. № 4. С. 147-148.

4. Чубуков, В. Ф. Микробы запасают металлы / В.Ф. Чубуков // Химия и Жизнь. – 1982. – № 11. – С. 53-55.

5. Сизенцов, А.Н. Изучение биоаккумулирующей способности бактерий рода *Bacillus* в отношении ионов свинца в условиях *in vitro* и *in vivo* / А.Н. Сизенцов, Е.Ю. Исайкина, О.В. Кван, А.Е. Бабушкина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2016. №. 2 (58) С. 186-188