

<sup>1</sup> Южно-Казахстанский государственный Университет им.М.Ауэзова, Шымкент, Казахстан

<sup>2</sup> Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан  
(E-mail: latif-aziz@mail.ru, almira.saparbekova@mail.ru, b\_g\_r@mail.ru)

### Исследование антибактериальной активности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12

**Аннотация:** Проблема лечения и профилактики острых кишечных инфекций стоит остро во всех странах без исключения. Выделенный из сока граната, произрастающего в Туркестанской области, штамм *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проявляет особенности пробиотической культуры *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. Исследование антагонистических способностей *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проводили с условно-патогенными или патогенными бактериями *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* как наиболее распространенными бактериями, связанными с диарейными состояниями. *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проявил отчетливое ингибирующее отношение к *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Доказано, что антагонистическая активность *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 против человеческих патогенов обусловлена снижением бактериального роста за счет прилипания бактерий к стенкам дрожжевых клеток.

Пробиотические дрожжевые культуры *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12 могут быть использованы в качестве профилактического и терапевтического средства для лечения различных диарейных заболеваний.

**Ключевые слова:** дрожжи, *Saccharomyces cerevisiae*, пробиотики, антагонизм, условно-патогенные или патогенные бактерии.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-80-89>

**1. Введение.** Острые кишечные инфекции (ОКИ) - это большая группа инфекционных заболеваний, вызванных различными микроорганизмами (бактерии и вирусы), объединенных сходным характером клинических проявлений в виде дисфункции желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и симптомами внекишечных расстройств. Актуальность этой проблемы доказывают следующие цифры: ежедневная заболеваемость составляет 11-12 миллионов человек, за год регистрируется до 4 миллиардов случаев (по данным ВОЗ). Диарея является главной причиной детской смертности в мире - это около 2 миллионов случаев в год, а ежедневно - почти 7 тысяч, в основном это случается в странах Африки, Азии, Латинской Америки. Размах заболевания влечет огромные экономические потери и, что самое страшное, человеческие потери [1].

Согласно определению ФАО/ВОЗ, пробиотики представляют собой живые микроорганизмы, которые при введении в достаточных количествах приносят пользу здоровью хозяину [2]. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* - единственные известные дрожжи с клиническими эффектами и единственный дрожжевой препарат с доказанной эффективностью пробиотиков в проведенных независимых исследованиях [3]. Пробиотические дрожжевые культуры *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* используются в качестве профилактического и терапевтического средства для лечения различных диарейных заболеваний [4]. Наиболее распространенными условно патогенными и патогенными бактериями, связанными с диарейными состояниями, являются *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. и *Clostridium perfringens* [4-6].

Выраженная эффективность *S. cerevisiae* var. *boulardii* против кишечных патогенов связана с различными механизмами, такими как снижение бактериальной обсемененности кишечника и нейтрализация бактериальных токсинов [4, 7]. В случае многих расстройств кишечника, адгезия патогенов к эпителиальным клеткам является начальной предпосылкой для развития

инфекции в кишечнике. Была исследована способность *S. cerevisiae* var. *boulardii* связывать клеточной поверхностью *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* [8, 9]. По-видимому, связывающая способность *S. cerevisiae* var. *boulardii* может быть универсальным способом его пробиотической активности против патогенов человека. Исследование проводилось для *S. cerevisiae* var. *boulardii*, взятых из исследуемых образцов, разработанных для профилактики и лечения диареи, для проверки их действия против широкого спектра патогенных и условно патогенных бактерий. Сокращение числа жизнеспособных и активных клеток этих бактерий может привести к ограничению их активности, которая может оказывать профилактическое или поддерживающее влияние при диарее различной этиологии.

Одной из гипотез, предложенных для объяснения пробиотической активности *S. cerevisiae* var. *boulardii* против энтеропатогенных микроорганизмов является антагонизм путем образования ингибирующих соединений [3,10-13]. Однако есть только несколько исследований, которые показали, что эти дрожжи ингибируют рост различных бактерий. Это влияние было продемонстрировано для *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, и *Escherichia coli* [13, 14]. Кроме того, Борнет и Бергонь-Березин [15] сообщают об уменьшении количества бактерий *P. aeruginosa* и *S. aureus* в присутствии *S. cerevisiae* var. *boulardii* в диетических смесях, предназначенных для энтерального питания у пациентов интенсивной терапии. Аналогично, Zbinden et al. [16] показали снижение числа клеток *S. typhimurium* через 5 ч в присутствии *S. cerevisiae* var. *boulardii*. Исследования in vivo показывают, что защитный рефлекс от *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* и *Clostridium difficile*, обнаруженный у мышей, использовавших пищу, ранее обработанную дрожжами, не связан с уменьшением общей популяции бактерий в кишечнике [17, 18]. Существуют и другие свойства, которые могли бы объяснить защитный эффект против энтеропатогенных бактерий, таких как иммуномодуляция, модуляция продуцирования веществ, обладающих антитоксичным воздействием [3,7,8,19].

## 2. Материалы и методы

Среда YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose) применяется для культивирования дрожжей *S.cerevisiae*; данная среда богата питательными веществами, аминокислотами, витаминами, минеральными веществами, повышенное содержание пептона, декстрозы (таблица 1), как дополнительный источник углеводов, и дрожжевого экстракта обеспечивает быстрый рост биомассы;

Таблица 1 - Среда YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose)

Питательные вещества	Содержание, г/л
Пептон	20,0
Дрожжевой экстракт	10,0
Декстроза	20,0
Бактериологический агар	15,0
pH	6,5 ± 0,2

Среда YPD, применяемая для культивирования дрожжей, содержит глюкозу, соли и белки, необходимые для быстрого роста *Saccharomyces cerevisiae*; пептон обеспечивает азот, минералы и аминокислоты, необходимые для роста *Saccharomyces cerevisiae*; дрожжевой экстракт является источником витаминов, особенно В-группы; бактериологический агар является желирующим агентом.

Приготовление: растворите 65 г сухого препарата в 1 л дистиллированной воды, нагрейте до полного растворения, стерилизуйте в автоклаве 15 мин при 121 °С, храните при 8-15 °С.

В нашем исследовании штамм *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 выращивали на агаризованном пептоно-декстрозном дрожжевом экстракте при комнатной температуре. Исследование антагонистических способностей *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проводили со следующими условно-патогенными или патогенными бактериями: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*.

Антибактериальная активность дрожжей была исследована на среде YPD с использованием метода агаровой плиты [9]. Это метод, основанный на наблюдении параллельного роста штаммов: индикаторного и антагонистического. Агарные выемки диаметром 14 мм были асептически вырезаны из агара с YPD, заросшего газоном. *S. cerevisiae* Az-12 инкубировали в течение 48 ч при 37 °С. В выемки с агаровой средой инокулировали индикаторный штамм (105-106 КОЕ/мл). После 18 ч инкубации измеряли диаметры зон ингибирования роста вокруг агаровых плит. Результаты в мм, за вычетом диаметра агаровой плиты. Для совместного культивирования дрожжей и условно патогенных и патогенных микроорганизмов использовалась модифицированная среда, близкая по содержанию и консистенции к среде кишечника.

Модифицированная среда состояла из следующих компонентов (в г / л дистиллированной воды): крахмал 5,0, пектин 2,0, гуаровая камедь 1,0, ксилан 2,0, арабиногалактан 2,0, инулин 1,0, казеин 3,0, пептон 3,33, триптон 5,0, рафиноза 10,0, соли желчных кислот - 0,4, дрожжевого экстракта - 4,5,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  - 0,005,  $NaCl$  - 6,16,  $KCl$  - 4,5,  $KH_2PO_4$  - 0,5,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  - 1,25,  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$  - 0,15,  $NaHCO_3$  - 1,5, цистеин - 0,8, хемин - 0,05; рН довели до 6,2.

Анализ роста дрожжей и бактерий осуществлялся с начальной инокуляцией 105 КОЕ/мл, инкубация проводилась при 37 °С в анаэробных условиях. Количество микроорганизмов оценивали методом подсчета каждые 4 часа в первый день, затем через 8 часов инкубации. Для дрожжей значения КОЕ/мл определяли путем нанесения соответствующих разведений в агаровую среду YPD с добавлением гентамицина (40 мг/100 мл) и для бактерий путем нанесения на питательный агар. В качестве индикаторных микроорганизмов использовались патогенные или условно патогенные бактерии человека: *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*.

### 3. Результаты и обсуждение

Из 180 различных видов дрожжей сахаромыцетов, выделенных из растительного сырья, произрастающего в Туркестанской области, большинство относятся к *Saccharomyces* - 159.

Наибольшую активность в сбраживании фруктовых соков показал *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, выделенный из граната. Важнейшими факторами выбора данного микроорганизма также являлись высокие органолептические показатели сброженного им сока, включающие: естественный фруктовый аромат, без посторонних для данного фрукта запахов, приятный слабо кислый вкус, без визуального появления мутности или значительного осадка.

*Saccharomyces cerevisiae* Az-12 является факультативным аэробом, легко сбраживает глюкозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу, мальтотриозу, не использует галактозу, в небольшом количестве потребляет пентозы — арабинозу, ксилозу и рибозу, а также в качестве источника углерода может использовать многие простые соединения, в частности, глицерин, в результате сбраживания сахаров образует  $CO_2$  и этиловый спирт. Оптимальный температурный режим  $37 \pm 1^\circ$ , что близко к температуре человеческого организма. Клетки растут в пределах от 5 °С до 45 °С. Оптимальное значение рН среды - 3,5-5,5. Сохраняет жизнеспособность в диапазоне рН от 1,2 до 10. Растет при содержании желчи в среде до 3,0%.

Колонии *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 на солодовом сусле - агаре-небольшие, гладкие, выпуклые, с ровными краями.



Рисунок 1 – Колонии *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 на солодовом сусле-агаре

Средний размер клеток составляет  $5,0 \times 6,4$  мкм. Форма клеток в основном округлая. Размножается почкованием. Не образует спор.

По многим перечисленным параметрам данный штамм *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проявляет особенности пробиотической культуры *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. Для возможности использования данного штамма в производстве пробиотических, функциональных продуктов исследованы их антагонистические способности к патогенным и условно патогенным микроорганизмам.

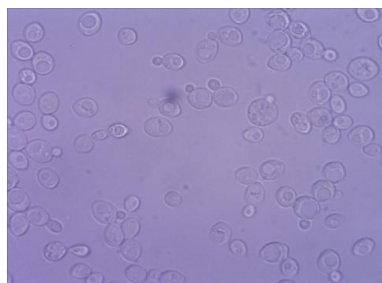


Рисунок 2 – Микроскопирование клеток *Saccharomyces cerevisiae* Az-12

Проявление антагонистической способности пробиотических дрожжей на патогенах человека подтверждается путем маркировки зон ингибирования роста бактерий с использованием метода агаровой плиты. Четкий антагонизм дрожжей против бактерий был подтвержден только для *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Последовательные результаты были получены для штамма *S. cerevisiae* Az-12, выделенного из сока граната, произрастающего в Туркестанской области. Зоны ингибирования равны ( $12,8 \pm 0,05$ ) для *Escherichia coli*; ( $13,5 \pm 0,05$ ) мм для *Staphylococcus aureus* и ( $10,7 \pm 0,05$ ) для *Pseudomonas aeruginosa*.

К *Enterococcus faecalis* дрожжи не проявили антагонистическую активность. Испытуемые бактериальные штаммы *Salmonella typhimurium* проявляли незначительные зоны ингибирования роста вокруг агаровых плит с *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, зона ингибирования ( $1,1 \pm 0,05$ ).

Дальнейшие исследования выполнялись на определение влияния пробиотических дрожжей *S. cerevisiae* Az-12 на патогенные или условно патогенные бактерии человека: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* и *Staphylococcus aureus*. Анализы проводили параллельно с использованием монокультуры все перечисленных микроорганизмов и при их совместном культивировании с *Saccharomyces cerevisiae* Az-12. Монокультура *Staphylococcus aureus* быстро развивается в модифицированной среде и в первые 8 часов количество возрастает почти в 1,4 раза.

Пробиотические дрожжи активно влияли на рост *Staphylococcus aureus*. Во время процесса совместного культивирования количество клеток *aureus* меньше на 1,7 log единицы, чем в монокультуре после 8 часов совместного культивирования с пробиотической культурой. В дальнейшем наблюдается также постепенное снижение количества *S. aureus*, на вторые сутки их количество ниже на 3-5,5 log единицы, чем в монокультуре. Кривая роста *S. aureus*, выращенная с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, представлена (рис.3).

Максимальный прирост культуры *Escherichia coli* наблюдается через 32 часа. При совместном культивировании с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 благодаря их антагонистическим способностям происходит значительное снижение количества жизнеспособных клеток *Escherichia coli* на 5-6 log единиц, что позволяет предположить о значительном подавляющем воздействии пробиотических дрожжей на *Escherichia coli*. Однако необходимо отметить и отрицательное воздействие *Escherichia coli* на развитие *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, так по сравнению с монокультурой их количество снижено в смешанной культуре более чем в 1,5 - 2 раза.

Кривая роста *E. coli*, выращенная с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, представлена (рис.4).

В случае исследования совместного культивирования штаммов *Pseudomonas aeruginosa* снижение количества бактериальных клеток наблюдалось в смешанных культурах с

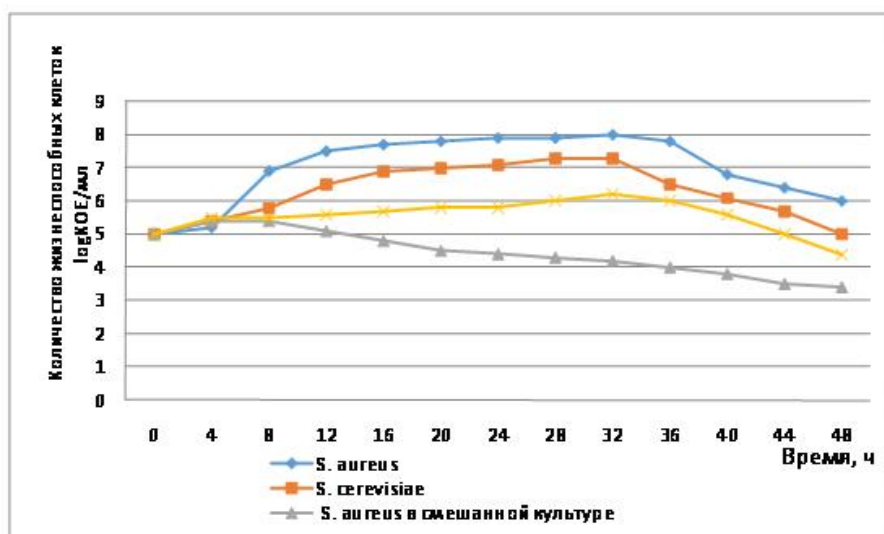


Рисунок 3 – Рост монокультур *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 и их рост при совместном культивировании

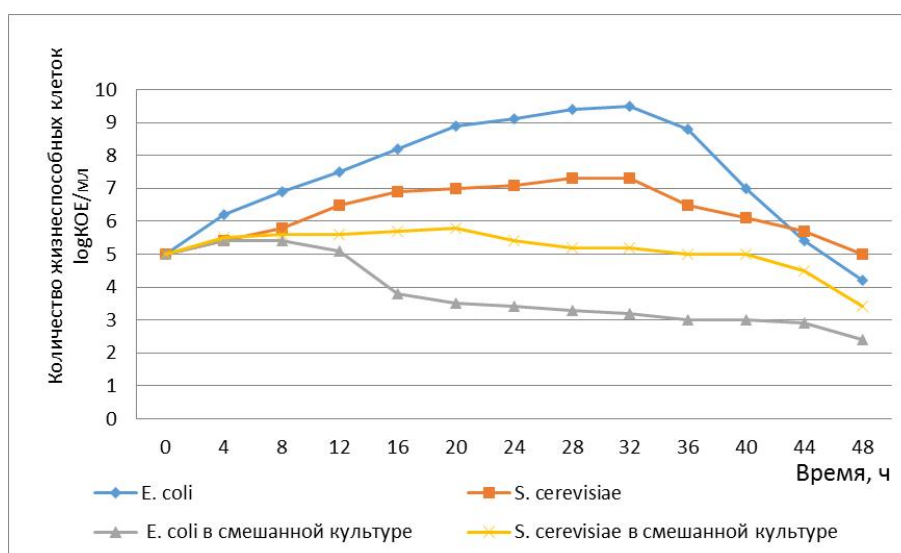


Рисунок 4 – Рост монокультур *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 и их рост при совместном культивировании

пробиотическими дрожжами *S. cerevisiae* Az-12, однако не так ярко выражена как у *S. aureus* и *E. Coli*, что показано на рисунке 5.

В смешанных культурах с пробиотическими дрожжами по сравнению с соответствующими бактериальными монокультурами снижение составляло, соответственно, в первые 12 часов на 18,9%, и с дальнейшим снижением до 41,8% в последующие 24 часа, и эти сокращения были статистически значимыми.

Кривая роста остальных дрожжевых штаммов имела аналогичный ход. Влияние пробиотических дрожжей также было связано с изменением экспоненциальных скоростей роста, временем, в течение которого культуры достигли максимальных темпов роста и продолжительности фазы лаг.

Необходимо отметить незначительный рост в первые часы *E. faecalis* и *S. Typhimurium* в смешанных культурах с *S. cerevisiae* Az-12. Увеличение темпа роста по сравнению с бактериальными монокультурами от 1,4% для *S. Typhimurium*, 1,6% для *E. faecalis* в присутствии дрожжей, по-видимому, связано с дополнительными питательными веществами, которые образуются в метаболических процессах дрожжей.

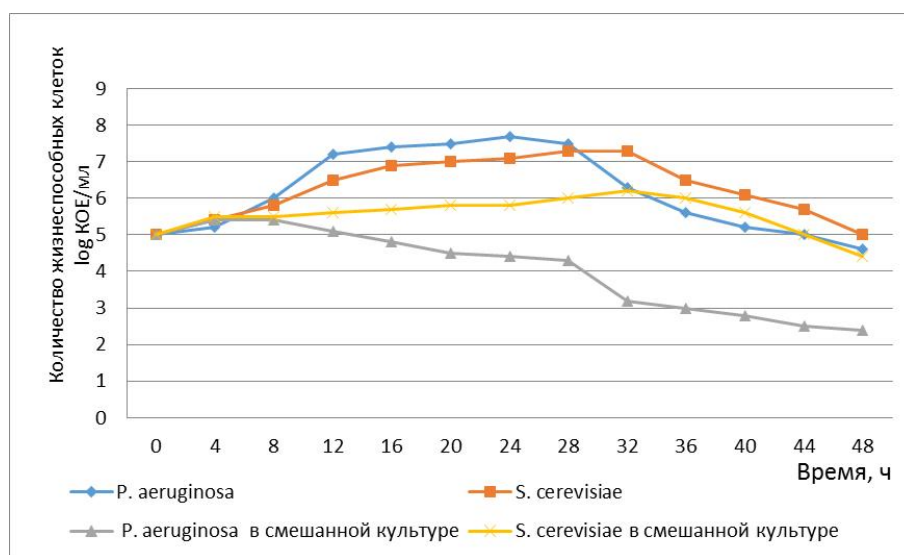


Рисунок 5 – Рост монокультур *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 и их рост при совместном культивировании

Установленная нами антагонистическая активность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, выделенных из граната, произрастающего в Туркестанской области, на патогенах человека была подтверждена зонами ингибирования роста бактерий *Staphylococcus aureus* -  $13,5 \pm 0,05$ , *Escherichia coli* -  $12,8 \pm 0,05$  и *Pseudomonas aeruginosa* -  $10,7 \pm 0,05$ . При этом *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проявил наиболее сильное ингибирующее отношение к *Staphylococcus aureus*.

*S. aureus* - один из распространенных и часто вызывающих кожные заражения, который может вызывать широкий диапазон инфекционных заболеваний. Анализ результатов культивирования на агаризованной среде показал зону ингибирования штамма *S. cerevisiae* Az-12 для *Staphylococcus aureus* ( $13,5 \pm 0,05$ ) мм (рисунок 6).



Рисунок 6 – Зона ингибирования *Staphylococcus aureus* пробиотическим штаммом *S. cerevisiae* Az-12

Предотвращение прилипания и транслокации бактерий в кишечных эпителиальных клетках связано с тем, что клеточная стенка *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 обладает способностью связывать энтеропатогены. В нашем исследовании мы использовали седиментационные и микроскопические методы для оценки адгезии бактериальных клеток к пробиотической клеточной стенке дрожжей. В методе седиментации на основе субъективной оценки размера гранул были получены явно положительные результаты для *S. Aureus* (рисунок 7).

Наши результаты согласуются с сообщением о том, что клеточная стенка *S. cerevisiae* var. *boulardii* показала связывающую способность к энтерогеморрагической *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* [20, 21]. Пробиотическая активность *S. cerevisiae* var. *boulardii*, основанная на связывании клеток *E. coli*, также была подтверждена в исследованиях *in vivo* [20]. Пробиотическая обработка дрожжей на вызванную сальмонеллой расстройством

кишечника: предотвращающий эффект был обусловлен связыванием *S. typhimurium* с дрожжами, интенсивнее чем с кишечными эпителиальными клетками [21, 22].

По проведенным исследованиям, в которых представлены результаты, демонстрирующие способность *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 связывать бактериальные штаммы *Staphylococcus aureus*, также было установлено, что прилипание кишечных бактерий может быть ингибировано D-маннозой или α-маннозидазой. Кроме того, дрожжевые маннопротеины могут служить рецепторами белок-белковых взаимодействий между дрожжами и бактериями.

Способность дрожжей связывать бактериальные клетки происходит из-за присутствия маннопротеинов в структуре клеточной стенки, и поэтому она не является уникальной особенностью, присущей *S. cerevisiae* var. *boulardii*, а это скорее универсальная особенность всех штаммов рода *Saccharomyces* [19]. Тем не менее, сканирующая электронная микроскопия показывает, что бактерии *Staphylococcus aureus* были более сильно связаны с поверхностью *S. cerevisiae* var. *boulardii* (рисунок 7), чем на поверхности не пробиотических штаммов *Saccharomyces cerevisiae*.

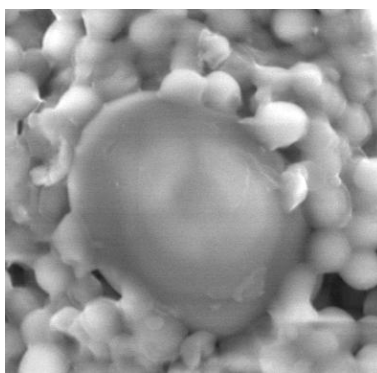


Рисунок 7 – Исследование адгезии *Staphylococcus aureus* к пробиотической клеточной стенке дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Az-12

Различия в связывающей способности также могут быть обусловлены условиями культивирования, такими как температура, влажность и pH. Таким образом, важным начальным событием в бактериальном патогенезе является приверженность бактерий через их поверхностные органеллы связываться с клетками кишечника хозяина. Использование *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 как пробиотика определяется тем, что данные дрожжи могут противодействовать адгезии патогенов к тканям хозяина, обеспечивая альтернативные места адгезии к энтеробактериям и таким образом предотвращают инфекции. Они также могут устранять патогены из желудочно-кишечного тракта инфицированных пациентов, выводя их из организма в связанном с дрожжевыми клетками состоянии.

**Заключение** В традиционной ферментированной пище образуется ряд веществ, потенциально полезных для здоровья человека. Использование пробиотических культур позволяет получить продукцию, содержащую эти культуры, за счет различных механизмов, благотворно влияющих на микрофлору кишечника. Однако пробиотические свойства специфичны и очень часто недостаточно хорошо охарактеризованы. Свойства штаммов одного и того же вида могут быть очень разными, поэтому для здоровья человека потенциальная пробиотическая способность должна быть очень хорошо охарактеризована.

Микрофлора человеческого организма очень сложна, и важно поддерживать соответствующий гомеостаз, который может быть неуравновешен при использовании антибиотиков. Это можно предотвратить или восстановить с помощью соответствующих пробиотиков. К сожалению, из-за сложности возможных взаимодействий и различных механизмов действий очень сложно зарегистрировать и коммерциализировать новый пробиотик.

Пробиотическая активность *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 против человеческих патогенов обусловлена снижением бактериального роста за счет прилипания бактерий к стенкам дрожжевых клеток. Пробиотические штаммы *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 вызвали

значительное сокращение количества клеток *P. aeruginosa*, *E. coli* и *S. aureu*. Способность *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 для связывания энтеропатогенов была подтверждена для *Staphylococcus aureus*.

Однако механизмы связывания кокков с поверхностью дрожжевых клеток ещё предстоит исследовать. Использование *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 может ограничить бактериальную инвазивность и инфекции, вызванные патогенами человека, за счет сокращения числа жизнеспособных и активных клеток бактерий и снижением патогенов, связанных с адгезивной поверхностью дрожжей и способностью в связанном состоянии выводиться из желудочно-кишечного тракта. Появление альтернативных мест адгезии к энтеробактериям дополнительно предотвращают инфекции.

Пробиотические штаммы *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 вызвали статистически значимое сокращение количество клеток *P. aeruginosa*, *E. coli* и *S. aureu*. Зоны ингибирования равны ( $12,8 \pm 0,05$ ) для *Escherichia coli*; ( $13,5 \pm 0,05$ ) мм для *Staphylococcus aureus* и ( $10,7 \pm 0,05$ ) для *Pseudomonas aeruginosa*. К *Enterococcus faecalis* дрожжи не проявили антагонистическую активность.

### Список литературы

- 1 Кошерава Б.Н., Доскожаева С.Т. Современные подходы и стандарты лечения острых кишечных инфекций в республике Казахстан//Казахстанский фармацевтический вестник [электр.ресурс]-URL: [http://pharmnews.kz/news/sovremennye\\_podkhody\\_i\\_standarty\\_licheniya\\_ostrykh\\_kishechnykh\\_infekciy\\_v\\_respublike\\_kazakhstan/2019-03-11-9590](http://pharmnews.kz/news/sovremennye_podkhody_i_standarty_licheniya_ostrykh_kishechnykh_infekciy_v_respublike_kazakhstan/2019-03-11-9590) ( : 12-04-2019).*Evaluation of Health and Nutritional Properties of Powder Milk and Live Lactic Acid Bacteria*, FAO, Switzerland, 2001. – 246p.).
- 2 Kumura H., Tanoue Y., Tsukahara M., Tanaka T., Shimazaki K. Screening of dairy yeast strains for probiotic applications//J. Dairy Sci. - 2004. - vol.87. - P.4050-4056.
- 3 Pothoulakis C. Review article: Anti-inflammatory mechanisms of action of *Saccharomyces boulardii*//Aliment. Pharm. Therap. - 2009. - vol.30. - P.826-833.
- 4 MacFarland L.V. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease//Am. J. Gastroenterol - 2006. - vol.101. - P.812-822.
- 5 Beaugerie L., Petit J.C. Antibiotic-associated diarrhoea, Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol - 2004. - vol.18. - P.337-352.
- 6 Czerucka D., Piche T., Rampal P. Review article: Yeasts as probiotics - *Saccharomyces boulardii*//Aliment. Pharm. Therap. - 2007. - vol.26. - P.767-778.
- 7 Gedek B.R. Adherence of *Escherichia coli* serogroup O 157 and the *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*//Mycoses - 1999. - vol. 42. - P.261-264.
- 8 Strus M. A new method for testing antagonistic activity of lactic acid bacteria (LAB) on selected pathogenic indicator bacteria//Med. Do?w. Mikrobiol - 1998. - vol.50. - P.123-130.
- 9 Kr?giel D., Berowska J. Evaluation of yeast cell vitality using different fluorescent dyes//Sci. Bull. Tech. Univer. Lodz Food Chem. Biotechnol. - 2009. - vol.73. - P.5-14.
- 10 STATISTICA (Data Analysis Software System), v. 6.0, StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA (2001) ([www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)).
- 11 Baranyi J., Roberts T.A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food//Int. J. Food Microbiol. - 1994. - vol.23. - P.277-294.
- 12 Zaika L.L., Philips J.G., Fanelli J.S., Scullen O.J. Revised model for aerobic growth of *Shigella flexneri* to extend the validity of predictions at temperatures between 10 and 19 ° C// Int. J. Food Microbiol - 1998. - vol.41. - P.9-19.
- 13 Bizot M. Antagonism phenomena between various microorganisms: Yeasts and bacteria// La Presse Med. - 1955. - vol.63. - P.1251-1252.
- 14 Brugier S., Patte F. Antagonism in vitro between ultra levure and different species of bacteria//Med. Paris - 1975. - vol.45. - P.3-8.
- 15 Bornet M., Bergogne-Berezin E. Bacterial growth in enteral eliminations value of the addition of *Saccharomyces boulardii*//Sci. Aliments - 1986. - vol.6. - P.63-73.
- 16 Zbinden R., Gonczi E.E., Altwegg M. Inhibition of *Saccharomyces boulardii* (nom. inval.) on cell invasion of *Salmonella typhimurium* and *Yersinia enterocolitica*//Microb. Ecol. Health Dis - 1999. - vol.11. - P.158-162.
- 17 Rodrigues A.C., Cara D.C., Fretez S.H., Cunha F.Q., Vieira E.C., Nicoli J.R., Vieira L.Q. *Saccharomyces boulardii* stimulates sIgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice//J. Appl. Microbiol - 2000. - vol.89. - P.404-414.
- 18 Martins F.S., Nardi R.M.D., Arantes R.M.E., Rosa C.A., Neves M.J., Nicoli J.R. Screening of yeasts as probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice//J. Gen. Appl. Microbiol. - 2005. - vol.51. - P.83-92.
- 19 Martins F.S., Dalmaso G., Arantes R.M.E., Doye A., Le Michez E., Lagadecet P. Interaction of *Saccharomyces boulardii* with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium protects mice and modifies T84 cell response to the infection//PLoS ONE - 2010. - vol.5.

- 20 Lessard M., Dupuis M., Gagnon N., Nadeau E., Matte J.J., Goulet J., Fairbrother J.M. Administration of *Pediococcus acidilactici* or *Saccharomyces cerevisiae* boulardii modulates development of porcine mucosal immunity and reduces intestinal bacterial translocation after *Escherichia coli* challenge//J. Anim. Sci. - 2009. - vol.87. - P.922-934.
- 21 Korhonen T.K., Leffler H., Eden C.S. Binding specificity of piliated strains of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* to epithelial cells, *Saccharomyces cerevisiae* cells and erythrocytes//Infect. Immun. - 1981. - vol.32. - P.796-804.
- 22 McDermid A.S., McKee A.S., Dowset A.B., Marsch P.D. The effect of environmental pH on the physiology and surface structures of *Salmonella* serotype Enteritidis phage type 4//J. Med. Microbiol. - 1996. - vol.6. - P.452-458.

А.А.Сапарбекова<sup>1</sup>, А.С.Латиф<sup>1</sup>, З.Р.Ахмедова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> М. Ауэзов атындағы Оңтүстік-Қазақстан мемлекеттік Университеті, Шымкент, Қазақстан

<sup>2</sup> Өзбекстан Республикасы Ғылым Академиясының микробиология институты, Ташкент, Өзбекстан

#### *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12 ашытқылардың бактерияға қарсы белсенділігін зерттеу

**Аңдатпа.** Жедел ішек инфекцияларын емдеу және алдын-алу проблемасы барлық елдерде өткір болып табылады. Түркістан аймағында өсірілген анар шырынынан оқшауланған *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 штамдары *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* пробиотикалық культураның ерекшеліктерін жүзеге асырады. *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 антагонистикалық қабілеті мынадай шартты патогенді немесе патогенді бактериялармен зерттелді: диареямен байланысты ең жиі кездесетін бактериялар ретінде *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 *Staphylococcus aureus* және *Escherichia coli*-ға ерекше ингибицияланған қатынасын көрсетті. Адамның патогендеріне қарсы *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 пробиотикалық белсенділігінің бактериялардың ашытқы жасушаларының қабырғаларына жабысуына байланысты бактериялық өсудің төмендеуіне байланысты екендігі дәлелденді.

Пробиотикалық ашытқы мәдениеті *Saccharomyces cerevisiae* var. *Boulardii* Az-12 түрлі диареялық ауруларды емдеуге арналған профилактикалық және терапевтік агент ретінде қолданыла алады.

**Түйін сөздер:** ашытқы, *Saccharomyces cerevisiae*, пробиотиктер, антагонизм, оппортунистік немесе патогендік бактериялар.

А.А. Сапарбекова<sup>1</sup>, А.С. Латиф<sup>1</sup>, З.Р. Ахмедова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> M. Auezov South-Kazakhstan State University, Shymkent, Kazakhstan

<sup>2</sup> Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

#### The research of the antibacterial activity of yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12

**Annotation.** The problem of treatment and prevention of acute intestinal infections is urgent in all countries without exception. The strain *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, isolated from the juice of pomegranate, grown in the Turkestan region, shows the features of the probiotic culture *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 antagonistic abilities were studied with the following conditionally pathogenic or pathogenic bacteria: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* as the most common bacteria associated with diarrhea diseases. *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 has a distinct inhibitory relationship to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. It has been proven that probiotic activity of *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 against human pathogens is due to a decrease in bacterial growth and due to the adherence of bacteria to the walls of yeast cells. Probiotic yeast cultures *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12 can be used as a preventive and therapeutic agent for the treatment of various diarrheal diseases.

**Keywords:** yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, probiotics, antogenism, conditionally pathogenic and pathogenic bacteria.

## References

- 1 Kosherova B. N., Doskozhaeva S. T. Sovremennyye podhody i standarty lecheniya ostrykh kishhechnykh infekcij v respublike Kazahstan//Kazahstanskij farmacevticheskiy vestnik [Modern approaches and standards of treatment of acute intestinal infections in the Republic of Kazakhstan//Kazakhstan pharmaceutical Bulletin], [Elect.resource] Available at: [http://pharmnews.kz/news/sovremennyye\\_podkhody\\_i\\_standarty\\_lecheniya\\_ostrykh\\_kishhechnykh\\_infekcij\\_v\\_republike\\_kazahstan/2016-03-11-9590](http://pharmnews.kz/news/sovremennyye_podkhody_i_standarty_lecheniya_ostrykh_kishhechnykh_infekcij_v_republike_kazahstan/2016-03-11-9590) (Accessed : 12.04.2019) *Evaluation of Health and Nutritional Properties of Powder Milk and Live Lactic Acid Bacteria*, FAO
- 2 Kumura H., Tanoue Y., Tsukahara M., Tanaka T., Shimazaki K. Screening of dairy yeast strains for probiotic applications//J. Dairy Sci. - 2004. - vol.87. - P.4050-4056.
- 3 Pothoulakis C. Review article: Anti-inflammatory mechanisms of action of *Saccharomyces boulardii*//Aliment. Pharm. Therap. - 2009. - vol.30. - P.826-833.
- 4 MacFarland L.V. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease//Am. J. Gastroenterol - 2006. - vol.101. - P.812-822.
- 5 Beaugerie L., Petit J.C. Antibiotic-associated diarrhoea, Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol - 2004. - vol.18. - P.337-352.
- 6 Czerucka D., Piche T., Rampal P. Review article: Yeasts as probiotics - *Saccharomyces boulardii*//Aliment. Pharm. Therap. - 2007. - vol.26. - P.767-778.
- 7 Gedek B.R. Adherence of *Escherichia coli* serogroup O 157 and the *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*//Mycoses - 1999. - vol. 42. - P.261-264.

- 8 Strus M. A new method for testing antagonistic activity of lactic acid bacteria (LAB) on selected pathogenic indicator bacteria//Med. Do?w. Mikrobiol - 1998. - vol.50. - P.123-130.
- 9 Krigiel D., Berowska J. Evaluation of yeast cell vitality using different fluorescent dyes//Sci. Bull. Tech. Univer. Lodz Food Chem. Biotechnol. - 2009. - vol.73. - P.5-14.
- 10 STATISTICA (Data Analysis Software System), v. 6.0, StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA (2001) (www.statsoft.com).
- 11 Baranyi J., Roberts T.A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food//Int. J. Food Microbiol. - 1994. - vol.23. - P.277-294.
- 12 Zaika L.L., Philips J.G., Fanelli J.S., Scullen O.J. Revised model for aerobic growth of *Shigella flexneri* to extend the validity of predictions at temperatures between 10 and 19 ° C// Int. J. Food Microbiol - 1998. - vol.41. - P.9-19.
- 13 Bizot M. Antagonism phenomena between various microorganisms: Yeasts and bacteria// La Presse Med. - 1955. - vol.63. - P.1251-1252.
- 14 Brugier S., Patte F. Antagonism in vitro between ultra levure and different species of bacteria//Med. Paris - 1975. - vol.45. - P.3-8.
- 15 Bornet M., Bergogne-Berezin E. Bacterial growth in enteral eliminations value of the addition of *Saccharomyces boulardii*//Sci. Aliments - 1986. - vol.6. - P.63-73.
- 16 Zbinden R., Gonczi E.E., Altwegg M. Inhibition of *Saccharomyces boulardii* (nom. inval.) on cell invasion of *Salmonella typhimurium* and *Yersinia enterocolitica*//Microb. Ecol. Health Dis - 1999. - vol.11. - P.158-162.
- 17 Rodrigues A.C., Cara D.C., Fretez S.H., Cunha F.Q., Vieira E.C., Nicoli J.R., Vieira L.Q. *Saccharomyces boulardii* stimulates sIgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice//J. Appl. Microbiol - 2000. - vol.89. - P.404-414.
- 18 Martins F.S., Nardi R.M.D., Arantes R.M.E., Rosa C.A., Neves M.J., Nicoli J.R. Screening of yeasts as probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice//J. Gen. Appl. Microbiol. - 2005. - vol.51. - P.83-92.
- 19 Martins F.S., Dalmasso G., Arantes R.M.E., Doye A., Le Michez E., Lagadecet P. Interaction of *Saccharomyces boulardii* with *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* protects mice and modifies T84 cell response to the infection//PLoS ONE - 2010. - vol.5.
- 20 Lessard M., Dupuis M., Gagnon N., Nadeau E., Matte J.J., Goulet J., Fairbrother J.M. Administration of *Pediococcus acidilactici* or *Saccharomyces cerevisiae boulardii* modulates development of porcine mucosal immunity and reduces intestinal bacterial translocation after *Escherichia coli* challenge//J. Anim. Sci. - 2009. - vol.87. - P.922-934.
- 21 Korhonen T.K., Leffler H., Eden C.S. Binding specificity of piliated strains of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* to epithelial cells, *Saccharomyces cerevisiae* cells and erythrocytes//Infect. Immun. - 1981. - vol.32. - P.796-804.
- 22 McDermid A.S., McKee A.S., Dowset A.B., Marsch P.D. The effect of environmental pH on the physiology and surface structures of *Salmonella* serotype *Enteritidis* phage type 4//J. Med. Microbiol. - 1996. - vol.6. - P.452-458.

**Сведения об авторах:**

*Сапарбекова А.А.* - кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биотехнология» Южно-Казахстанского государственного университета имени М.Ауэзова, проспект Тауке хана 5, г. Шымкент, Казахстан.

*Латиф А.* - магистр естественных наук, старший преподаватель кафедры «Биология» Южно-Казахстанского государственного университета имени М.Ауэзова, проспект Тауке - хана 5, Шымкент, Казахстан.

*Ахмедова З.Р.* - доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией «Ферменты микроорганизмов» Института микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, город Ташкент, Узбекистан.