



## ИСЭГ ЦАГААН ИДЭЭНЭЭС ЯЛГАСАН СҮҮН ХҮЧЛИЙН БАКТЕРИЙН ШИНЖ ЧАНАРЫН СУДАЛГАА

Б.Хандсүрэн<sup>1\*</sup>, Ш.Дэмбэрэл<sup>2</sup>, Ж.Дүгэрсүрэн<sup>2</sup>

1. Мал эмнэлгийн сургууль, Монгол улс

2. Мал эмнэлгийн хүүрээлэн, Монгол улс

\* Цахим шуудан: [khanduul@yahoo.com](mailto:khanduul@yahoo.com)

Редакцид ирүүлсэн: 2017.05.12

### ХУРААНГУЙ

Монгол малчдын уламжлалт аргаар бэлтгэсэн исгэлэн сүүн бүтээгдэхүүн болох гүүний айраг, үхрийн тарагнаас сүүн хүчлийн савханцар ялган авч түүний пробиотик шинж чанарыг *in vitro* орчинд судаллаа. Энэхүү судалгааны дүнд шинж чанараараа бусдаасаа давуу байсан 44с өсгөвөр нь Монголд айрагнаас ялгасан омог КТ368987 болох *Lactobacillus helveticus* (*L.helveticus*) зүйлтэй 100%, 65b өсгөвөр нь Говь-Алтай аймагт ингэний хоормогноос ялгасан омог СР016393 болох *Lactobacillus delbreuckii subsp. bulgaricus* (*L.bulgaricus*) зүйлтэй 99% төстэй байлаа. Гарган авсан сүүн хүчлийн савханцирууд нь малын *Escherichia coli* (*E. coli*) 09, *E. coli* 026, *Salmonella abortusovis* (*S. abortusovis*) 0068 болон хүн амын дунд тархсан *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) 5695, *S. aureus* 5068, *S. aureus* SA27, *E.coli* 10963, *E.coli* 10977 зэрэг ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгчдийн ургалтыг бүрэн дарангуйлж байв. Тэдгээрийг зохицуулах үйлчилгээтэй хүнсний бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэлд хэрэглэх омогт тавигдах үндсэн шалгуурууд болох хоол боловсруулах замын хүчиллэг орчныг тэсвэрлэх болон өргөн хэрэглээний антибиотиктуудтай хавсран хэрэглэхэд идэвхээ алдахгүй байх чанаруудыг судлан тогтоолоо.

Туришлтын дүнгээс харахад амьдрах орчны pH 4.0 болоод 3.5-д хүрэхэд омгууд 80-аас дээш хувийн ургалттай байснаас гадна пенициллин, аминоглюкозид, цефалоспорин, макролид зэрэг 5 бүлгийн 10 төрлийн антибиотикт харилцан адилгүй мэдрэг чанартай (тэсвэртэй) байлаа. Жишээлбэл: Бүх ашигласан антибиотикийн зээрэнцэг *L.helveticus* 44с өсгөвөрт 8.9±0.87 мм-ийн хүрээ үүсгэж байсан нь түүнийг эмчилгээний зориулалтаар эдгээр антибиотиктэй хослон хэрэглэх боломжтойг батлан харуулж байгаа юм. Эдгээр шинжүүдээс гадна 1 мл-т агуулагдах бактерийн тоог анаэроб нөхцөлд MRS тэжээлт орчинд ургуулж CFU/ml-ийг тогтоосон. *L.helveticus* 44с-ийн хувьд ургалтын 48 дахь цагтаа 2176 x10<sup>10</sup>, *L.delbreuckii subsp. bulgaricus* 65b нь 72 дахь цагтаа 2503 x 10<sup>10</sup> хүрээд эргэн буурах хандлагатай байлаа. Тиймээс эдгээр омгуудыг тухайлбал *L.helveticus* 44с, *L.delbreuckii subsp. bulgaricus* 65b омгуудыг пробиотик бүтээгдэхүүн өөрөөр хэлбэл зохицуулах үйлчилгээтэй бүтээгдэхүүний эх материал болгон ашиглах боломжтой юм.

**Түлхүүр үгс:** Сүүн хүчлийн бактери, пробиотик, антогонист идэвх, *L.helveticus*, *L.delbreuckii ssp. Bulgaricus*;

## ОРШИЛ

Дэлхий нийтээрээ эрүүл мэндийн ач холбогдолтой, экологийн цэвэр бүтээгдэхүүний нэг төрөл болох ашигтай бактери (пробиотик) агуулсан бүтээгдэхүүнийг чухалчлан үзэж, хэрэглээний хүрээ өсч байна. Манай оронд уул бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэл, хэрэглээг өргөжүүлж, хэвшүүлэх баялаг эх сурвалж олон байгаагийн дотор монголчууд бидний олон зууныг дамжуулан өнөөг хүртэл уламжлагдаж ирсэн исэг цагаан идээний хөрөнгөний технологи, хэрэглээний соёл [Demberelet *al.*, 2016] томоохон байр суурь эзэлнэ.

Сүүлийн жилүүдэд эмчилгээ сэргийлэлтийн идэвхтэй сүүн хүчлийн бактерийн амьд үржил агуулсан пробиотик бэлдмэлүүдийг хүн, мал эмнэлгийн тэр

тусмаа нялх төл, хүүхдийн эмчилгээнд нилээд өргөн ашиглах болсны дээр исгэлэн сүүн бүтээгдэхүүн хэрэглэхийн ач тусыг шинжлэх ухааны өгөгдөхүүнээр баяжуулсаар байна. Эдгээр хэрэгцээ, шаардлагын үүднээс бид төрөл бүрийн исгэлэн сүүн бүтээгдэхүүнээс анаэроб (агааргүй) нөхцөлд сонгомол тэжээлийн орчноор дамжуулан сүүн хүчлийн бактерийг сонгон шалгаруулах замаар пробиотик бүтээгдэхүүнд ашиглах омгуудыг хайх судалгааг явуулсаар байна. Тэдгээрийн дотроос энэ удаад Монгол Алтайн нурууны Казах үндэстний уламжлалт аргаар исгэсэн сүүн бүтээгдэхүүнээс ялгасан сүүн хүчлийн савханцрын биологийн идэвхт шинж чанарын судалгааны үр дүнг толилуулж байна.

## МАТЕРИАЛ, АРГА ЗҮЙ

Монгол Алтайн нурууны Казах үндэстний исгэсэн сүүн бүтээгдэхүүнээс авсан дээжийг зөөврийн хөргөгчийн Цельсийн +20-40 хэмд хадгалан лабораторид авчран судалгаанд ашиглалаа. Дээжийг ариутгасан физиологийн уусмалаар 10-5 хүртэл шингэлэн MRS хатуу, шингэн тэжээлт орчинд GasPak систем ашиглан агааргүй нөхцөлд өсгөвөрлөх замаар 112 анхдагч өсгөвөр гарган авч, тэдгээрээс өсгөвөржилт, хэлбэр зүйн хувьд тохиромжтойг нь цэвэршүүлж, пробиотик үйлчилгээний чадавхаар нь сонгон шалгаруулсны эцэст төрөл зүйлийг нь молекул биологийн аргаар тодорхойлон удмын модны зураглал гаргалаа.

Сүүн хүчлийн бактерийн цэвэр өсгөврүүдийг гарган авахдаа сонгомол тэжээлийн хатуу, шингэн орчинд суулгалт хийсний дараа анаэроб контейнерт GasPak систем ашиглан өсгөвөрлөлт явуулсан.

Цэвэр өсгөврүүдийн антагонист

идэвхийг төлийн ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгч *E. coli* 09, *E. coli* 026, *S. abortusovis* 0068 дугаартай нутгийн омгууд мөн хүний ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгч *S. aureus* 5695, *S. aureus* 5068, *S. aureus* SA27, *E. coli* 10963, *E. coli* 10977 дугаартай нутгийн омгуудыг ашиглан цуврал шингэрүүлэлтийн аргаар тодорхойлов.

Хүчиллэг орчинд тэсвэрлэлтийг 3.5 (B) болон 4.0 (C) pH-тай тэжээлт орчинд ургасан колоний тоог эх өсгөврийн (A) колоний тоотой харьцуулах замаар тодорхойлсон.

Антибиотикт тэсвэрт чанарыг Унгар улсын Biolab лабораторид үйлдвэрлэсэн 10 мкг, 15 мкг, 30 мкг антибиотик агуулсан зэрэнцгийг ашиглан Кирби-Бауэрийн диск нэвчүүлэлтийн аргаар тодорхойлов. Зэрэнцгийн эргэн тойронд бичил биетний өсөлт саатсан хүрээг зэрэнцгийн диаметрийг оролцуулан хэмжиж ангиллын дагуу үр дүнг тооцов.



## Хүснэгт 1. Судалгаанд ашигласан антибиотикийн жагсаалт

Антибиотикийн бүлэг	Антибиотикийн нэр	Товчилсон нэр
Пенициллин (Пенициллин хосолсон)	Amoxicillin	AX30
	Amoxicillin+Clavulanic acid	AMC30
	Ampicillin	AM10
	Ampicillin+Sulbactam	SAM30
Аминогликозид	Gentamicin	CN15
Цефалоспорин	Cefazolin	CZ30
Макролид	Erythromycin	E15
	Clarithromycin	CLR15
Бусад	Chloramphenicol	C30
	Metronidazole	MET30

Сонгон шалгаруулсан бактерийн ургалтын эрчим (CFU/ml)-ийг Miles, Misra нарын аргаар 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 цагийн үечлэлээр ургасан колоний тоогоор тогтоов.

Сонгон авсан бактерийн клоныг 50мкл PBS-д суспензлэн, QIAamp DNA Mini Kit ашиглан үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу ДНХ ялгав. Омгийн төрөл, зүйлийг тодорхойлохын тулд

16S р-PHX генийг сонгон авч, 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'); 534R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') праймер ашиглан ПГУ-аар олшруулж, нуклеотидын дараалал тодорхойлсон. Нуклеотидын дарааллыг Дэлхийн ген банкин дарааллуудтай NCBI BLAST програм ашиглан, харьцуулалт хийн зүйлийг тодорхойлов.

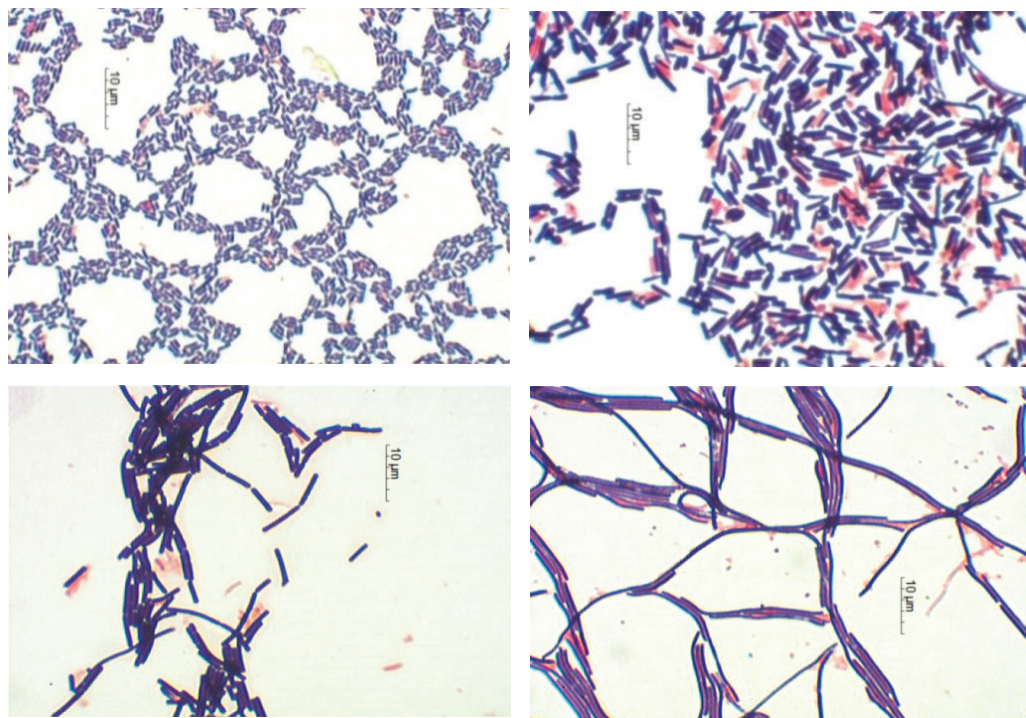
## ҮР ДҮН

Сонгон авсан цэвэр өсгөврүүдийг MRS шингэн тэжээлт орчинд суулган 37°C-ийн хэмд 24 цаг анаэроб нөхцөлд өсгөвөрлөн, түрхэц бэлтгэж, Грамын аргаар будаж бичил харуураар шинжлэхэд тэгш төгсгөлтэй, ганцаар болон хоёр гурваараа заримдаа түүнээс ч олноор гинжилсэн байрлалтай, хэмжээний хувьд харилцан адилгүй урттай, таруу байрлалтай, Грам эерэг зэргээр хэлбэр зүйн хувьд сүүн хүчлийн савханцрын шинж байдлыг тогтвортой үзүүлж байв (Зураг 1).

Нян судлалын шинжилгээгээр MRS шингэн тэжээлт орчинд 24 цаг өсгөвөрлөхөд зарим өсгөврийн хувьд орчныг жигд булингартуулан, тубаны ёроолд бага зэрэг саарал өнгийн тунадас үүсгэж, зарим нь үүл

мэт доороосоо дээш хөвсийн булингартаж өсгөвөржсөн. Өсгөвөржилтийн 48 дахь цагт хатуу тэжээлийн гадаргуу дээр тод цагаан өнгөтэй, гөлгөр тэгш захтай, дугуй хэлбэрийн колони үүсгэж байв.

**Төлийн ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгч нянгийн эсрэг үйлчилгээг судалсан дүн:** Туршилтанд Малын эмийн сорилт баталгаажуулалтын улсын лабораторид хадгалагдаж буй *E. coli* 09, *E. coli* 026, *S. abortusovis* 0068 дугаартай нутгийн омгуудыг ашиглав. Туршилтын дүнгээс харахад бидний ялгасан өсгөврүүд хоруу чанар өндөртэй омгуудын ургалтыг дарангуйлж байлаа (Хүснэгт 2).



Зураг 1. Грам эерэг савханирууд 37a, 40c, 44c, 65b

Хүснэгт 2. Цэвэр өсгөврүүдийн малын ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгчдэд үзүүлэх антагонист идэвхийг судалсан дүн

№	Өсгөвөр дугаар	Эмгэг төрүүлэгч омгуудын ургалтыг саатуулж ариун бүс үүсгэсэн хэмжээ (мм)			M±m
		<i>E. coli</i> 09	<i>E. coli</i> 026	<i>S. abortusovis</i> 0068	
1	32d	35.0	33.0	25.0	31.0±5.29
2	37a	41.0	30.0	25.0	32.0±8.18
3	40c	35.0	30.0	25.0	30.0±5.00
4	44c	32.0	30.0	30.0	30.6±1.15
5	48c	27.0	34.0	30.0	30.3±3.51
6	60c	40.0	30.0	25.0	31.6±7.63
7	65b	31.0	36.0	25.0	30.6±5.50
M±m		34.4±4.5	31.8±2.2	26.4±2.2	

**Хүчил тэсвэрлэх идэвхийг судалсан дүн:** Сүүн хүчлийн бактерийн пробиотик шинж чанарын нэг үзүүлэлт нь орчныг хүчиллэг болгохын зэрэгцээ хүчиллэг орчны нөлөөг тэсвэрлэх чанар байдаг. Иймээс өсгөвөр тус бүрийн хүчил тэсвэрлэх

идэвхийг рН 4.0 болон 3.5-тай орчинд тодорхойлсон дүнг хүснэгт 3-аар харуулав. Онцлон дурьдвал 44c, 65b өсгөврүүд 93.9-94.8 хувийн тэсвэртэй байгаа нь тэдний ургалтанд орчны хүчиллэг нөлөөлөхгүй байгааг илтгэн харуулж байна (Хүснэгт 3).

Хүснэгт 3. Цэвэр өсгөврүүдийн хүчиллэг орчин тэсвэрлэх чадавхийг судалсан дүн

№	Өсгөвөр дугаар	Ургасан колонийн тоо						
		A рН 6.2	B рН 4.0	Хувь	Анги- лал	C рН 3.5	Хувь	Анги- лал
1	32d	333	313	93.9	3	295	88.5	3
2	37a	250	244	97.6	3	201	80.4	3
3	40c	262	238	90.8	3	220	83.9	3
4	44c	249	235	94.3	3	265	93.9	3
5	48c	272	265	97.4	3	254	93.3	3
6	60c	199	195	97.9	3	184	92.4	3
7	65b	310	300	96.7	3	294	94.8	3
M±m		267.8±43.5	255.7±40.6	95.5±2.6		244.7±44.0	89.6±5.5	

Тайлбар:

Ангилал 0 – В-д колони ургаагүй бол тэсвэргүй

Ангилал 1 – В-ийн колони А-д ургасан колоний 0-30% байвал нилээд мэдрэг

Ангилал 2 – В-ийн колони А-д ургасан колоний 30-80% байвал мэдрэг

Ангилал 3 – В-ийн колони А-д ургасан колоний 80%-иас илүү байвал тэсвэртэй

**Хүний ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгч нянгийн эсрэг үйлчилгээг судалсан дүн:** Сүүлийн жилүүдэд анагаах ухааны салбарт пробиотикүүдийн дотроос биологийн идэвхтэй сүүн хүчлийн бактери агуулсан бэлдмэлүүдийг ходоод гэдэсний үрэвсэлт өвчин, суулгалт, дисбактериоз, хеликобактерийн гаралтай ходоодны үрэвсэлт өвчний эмчилгээнд түлхүү хэрэглэж эхлээд байна. Эмчилгээний мөн чанарыг анагаах ухаанд тайлбарлахдаа сүүн хүчлийн бактериуд нь гэдэсний хананд бэхлэгдэн органик хүчлүүдийг үүсгэж орчны рН-ийг хүчиллэг болгохын зэрэгцээ өөрийн биеэс бактериоцин, лактолин, ацидофилин, ацидолин зэрэг антибиотик төст үйлчилгээтэй бодисуудыг ялгаруулах

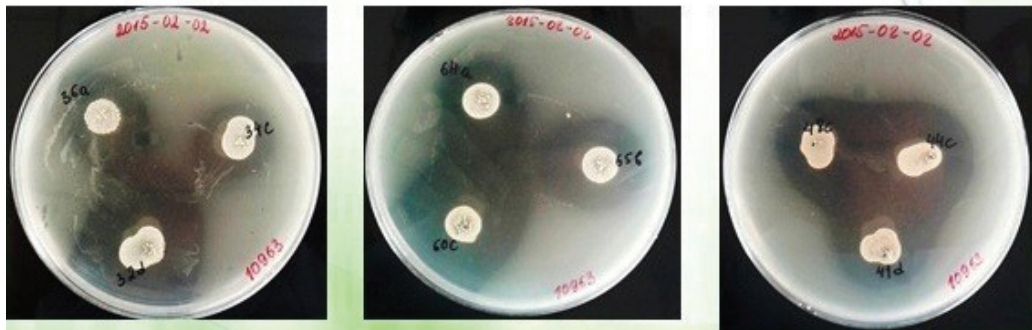
замаар гэдэсний ханын барьерийг идэвхжүүлж, эмгэг төрүүлэгч нянгуудын өсөлт, үржлийг саатуулж, үржин хөгжих чадавх, байрлах орчныг нь үгүй хийдэгтэй холбон үздэг байна. Эдгээр үндэслэлүүдэд тулгуурлан ходоод гэдэсний хямрал үүсгэдэг *S. aureus* 5695, 5068, SA27, *E. coli* 10963, 10977 дугаартай омгуудыг (ХӨСҮТ) ашиглан өсгөврүүдийнхээ антагонист идэвхийг судлав. Туршилтын дүнгээс харахад бидний судалж буй өсгөврүүдийн дийлэнх нь эмгэг төрүүлэгчдийн ургалтыг саатуулан 30мм-ээс дээш ариун бүс үүсгэн өсгөвөржиж буй нь тэдний үржлийг дарангуйлах чадвар сайтайг харуулсан үзүүлэлт юм (Хүснэгт 4, Зураг 2).

Хүснэгт 4. Цэвэр өсгөврүүдийн хүний гэдэсний эмгэг төрүүлэгчдэд үзүүлэх антагонист идэвхийн судалгаа

№	Өсгөвөр дугаар	Эмгэг төрүүлэгч омгуудын ургалтыг саатуулж ариун бүс үүсгэсэн хэмжээ (мм)					M±m
		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	
		5695	5068	SA27	10963	10977	
1	32d	42.0	30.0	30.0	37.0	40.0	35.8±5.58
2	37a	40.0	26.0	35.0	32.0	40.0	34.6±5.89
3	40c	45.0	26.0	35.0	37.0	40.0	36.6±7.02
4	44c	35.0	36.0	31.0	34.0	40.0	35.2±3.27
5	48c	32.0	29.0	27.0	30.0	36.0	30.8±3.42
6	60c	42.0	35.0	32.0	34.0	43.0	37.2±4.96
7	65b	35.0	29.0	26.0	27.0	29.0	29.2±3.49
M±m		38.7±4.7	30.1±3.9	30.8±3.5	33.0±3.6	38.2±4.5	



***S.aureus* 5068 омгийн эсрэг үзүүлсэн ургалтын хүрээ**



***E.Coli* 10963 омгийн эсрэг үзүүлсэн ургалтын хүрээ**

Зураг 2. Хүний ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгч нянгийн ургалтыг дарангуйлсан байдал

**Антибиотик тэсвэрлэх чадварыг судалсан дүн:** Туршилтын дүнгээс харахад өсгөвөр тус бүрийн антибиотик тэсвэрт чанар харилцан адилгүй байлаа. Онцлон дурьдвал 44с өсгөвөр ашигласан 10 төрлийн антибиотикт бусдаасаа илүү тэсвэртэй буюу мэдрэг бус ( $9.4 \pm 0.96$ ) байлаа. Харин 48с Amoxicillin (AX30), 60с Amoxicillin+Clavulanic acid (AMC30), Ampicillin+Sulbactam (SAM30) зэрэг антибиотикт тэсвэр муутай байгаа нь тогтоогдлоо (Хүснэгт 5).

**Сүүн хүчлийн бактерийн цэвэр өсгөврүүдийн ургалтын эрчим (CFU/ml)-ийг судалсан дүн:** Нэгж эзэлхүүнд агуулагдах бактерийн тоог түүний ургалтын цагуудаар судлан тогтоох явдал судалгааны төдийгүй цаашилбал

пробиотик бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэл болоод үйлчилгээний цар хүрээнд нэн түрүүн шаардагдах чухал үзүүлэлтийн нэг юм. Иймд пробиотик шинж чанараараа бусдаасаа давуу байгаа *L.helveticus* 44с, *L.bulgaricus* 65b өсгөврүүдийг сонгон ургалтын эрчмийг өсгөвөрлөснөөс хойшхи 6 цагаас эхлэн (12, 24, 48, 72, 96) тодорхой цагуудаар судлан (CFU/ml) тогтооход өсгөвөржилтийн 48-72 дахь цагт өсгөврүүдийн нэгж эзэлхүүнд агуулагдах савханцрын тоо хамгийн өндөр түвшинд хүрээд 96 цагаас эхлэн буурах хандлагатай байлаа. Тухайлбал *L. helveticus* 44с 48 дахь цагт  $2176 \times 10^{10}$  CFU/ml, *L.bulgaricus* 65b 72 цагтаа  $2503 \times 10^{10}$  CFU/ml хэмжээнд буюу хамгийн өндөр түвшинд хүрч байв (Тахирмаг 1).

Хүснэгт 5. Сүүн хучлийн бактерийн цэвэр өсгөөрүүдийн антибиотик тэсвэргэх чадварын судалгаа

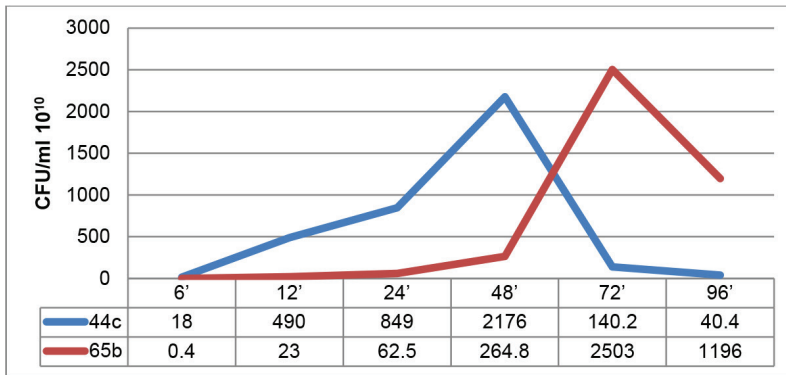
Өсгөврийн дугаар	Антибиотикийн зэрэнцгийн хүрээ (мм)												M±m				
	AX30	AMC30	AM10	SAM30	C30	CLR15	CN15	CZ30	E15	MET30	ангилина	ангилина					
32d	8.0	R	9.0	R	13.0	R	11.0	R	14.0	R	10.0	R	9.0	R	9.0	R	10.4±1.89
37a	10.0	R	13.0	R	9.0	R	12.0	R	9.0	R	10.0	R	13.0	R	9.0	R	11.3±2.11
40c	10.0	R	8.0	R	10.0	R	11.0	R	9.0	R	10.0	R	8.0	R	9.0	R	9.4±0.96
44c	8.0	R	9.0	R	10.0	R	8.0	R	9.0	R	9.0	R	8.0	R	10.0	R	8.9±0.87
48c	22.0	S	0	R	8.0	R	0	R	10.0	R	10.0	R	14.0	R	8.0	R	7.2±7.37
60c	11.0	R	20.0	S	10.0	R	11.0	R	10.0	R	10.0	R	14.0	R	11.0	R	12.7±4.02
65b	11.0	R	9.0	R	8.0	R	9.0	R	12.0	R	9.0	R	14.0	R	9.0	R	10.0±1.82

Тайлбар: Сүүн хучлийн бактерийн өсөлт саатсан ариун бүсийн диаметр нь:

≤14 мм бол тэсвэртэй (Resistant /R)

15-17 мм бол завсрын ба дундаж (Intermediate /I)

≥ 18 мм бол тэсвэргүй (Susceptible /S)



Тайрмал 1. Сүүн хүчлийн бактерийн цэвэр өсгөврүүдийн ургалтын эрчим

Сүүн хүчлийн бактерийн зүйлийн бүрэлдэхүүн тодорхойлсон дүн: Пробиотик шинж чанараар нь сонголт хийсэн өсгөврүүдээс QIAamp DNA Mini Kit ашиглан зааврын дагуу ДНХ ялгасан. Омгийн төрөл, зүйлийг тодорхойлохын тулд 16S р-PHX генийг сонгон авч, 27F (5'-AGAGTTTGGATCCTGGCTCAG-3'); 534R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') праймер ашиглан ПГУ-аар олшруулж, нуклеотидын дараалалыг тодорхойлж NCBI BLAST програм ашиглан Дэлхийн ген банкны дарааллуудтай харьцуулалт хийн зүйлийг тодорхойлов. Судалгааны үр

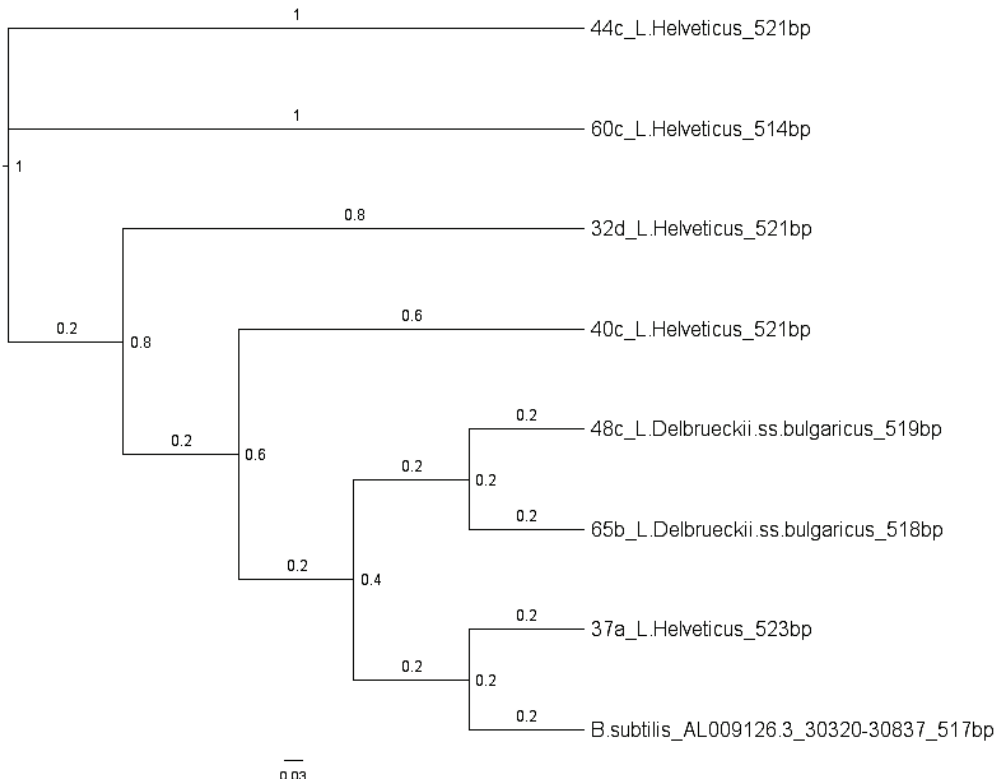
дүнгээс харахад 44c өсгөвөр нь Монголд айрагнаас ялгасан омог KT368987 болох *L.helveticus* зүйлтэй 100%, 65b өсгөвөр нь Говь-Алтай аймагт ингэний хоормогноос ялгасан омог CP016393 болох *L.bulgaricus* зүйлтэй 99% төсөөтэй байлаа (Хүснэгт 6).

16S генийн ДНХ-ийн дараалалд Genetyx 6.0 болон ClustalX2 программууд ашиглан алигмент анализ хийж, Outgroup-ээр *B.subtilis* (Ген банкны дугаар AL009126)-ийг сонгон NJ (Neighbor Joining) алгоритм ашиглан FigTree v1.3.1 програм дээр удмын модны зураглал гаргалаа (Зураг 3).

Хүснэгт 6. Дараалал тогтоосон ДНХ-ийн хос суурийн тоо, зүйл тодорхойлсон үндэслэл, тухайн зүйлтэй төсөөтэй %

№	Өсгөвөр дугаар	Бактерийн төрөл зүйл	ДНХ-ийн хос суурийн тоо	16S генийн дарааллын хувьд тухайн зүйлтэй төсөөтэй %
1.	32d	<i>L.helveticus</i>	521 bp	99% (Монголд айрагнаас ялгасан омог KT368991)
2.	37a	<i>L.helveticus</i>	523 bp	99% (Бразилд дарснаас ялгасан омог MF191698)
3.	40c	<i>L.helveticus</i>	521 bp	100% (Казахстанд бяслагнаас ялгасан омог KU555467)
4.	44c	<i>L.helveticus</i>	521 bp	100% (Монголд айрагнаас ялгасан омог KT368987)
5.	48c	<i>L.bulgaricus</i>	519 bp	100% (Тува усад уламжлалт исгэсэн сүүн бүтээгдэхүүнээс ялгасан омог KJ026667)
6.	60c	<i>L.helveticus</i>	514 bp	100% (Монголд айрагнаас ялгасан омог KT368991)
7.	65b	<i>L.bulgaricus</i>	518 bp	99% (Говь-Алтай аймагт ингэний хоормогноос ялгасан омог CP016393)





Зураг 4. Сүүн хүчлийн бактерийн удмын модны зураглал

## ХЭЛЦЭМЖ

Сүүн хүчлийн бактери нь өөрийн биеэс антибиотик төст бодис (бактериоцин, лактолин, низин г.м) ялгаруулан [Batdorj et al., 2006] эмгэг төрүүлэгч бактериудын үржлийг саатуулан тэдгээрийн үүсгэсэн хортой бодисын цусанд шимэгдэх явцыг сааруулах үйлчилгээтэй [Рожерс, 1928, Квасников, 1975, Антипов, 1980, Тимошко, 1980, Sanai Okada 2003] бөгөөд шим тэжээлийн бодисын нийлэгжлийг сайжруулах замаар тэжээл боловсруулалтыг засан идэвхжүүлж бие махбодын уураг, нүүрс ус, витамин хангамжийг дээшлүүлдэг [Дэмбэрэл ба Дүгэрсүрэн, 2003] гэсэн судлаачдын дүгнэлтийг бидний зүгээс пробиотик бактериудын үйлчилгээний гол үнэлэмж гэж үзсэн юм. Ийм ч учраас уул зарчмыг баримтлан судалж буй өсгөврүүдийнхээ антагонист

идэвхийг төлийн (*E. coli* 09, *E. coli* 026, *S. abortusovis* 0068) болон хүний (*S. aureus* 5695, *S. aureus* 5068, *S. aureus* SA27, *E. coli* 10963, *E. coli* 10977) ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгч нянгуудын эсрэг үйлчилгээгээр үнэлсэн билээ. Туршилтын дүнд бидний ялган авсан *L.helveticus* 44c, *L.bulgaricus* 65b зүйлийн савханцрууд нь хүн, малын ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгчдийн ургалтыг бүрэн дарангуйлсан нь ашигтай бактерийн гол шинжийг харуулсан үзүүлэлт болно.

Орчны pH-ын өөрчлөлт нь микроорганизмын ферментийн идэвхт нөлөөлснөөр түүний эсийн дотор явагдах биохимийн урвалуудын хурд, чиглэлийг өөрчилдөг. Орчны pH өөрчлөгдөхөд эсийн гадаргуугийн цахилгаан цэнэг хувирч зарим төрлийн ионуудын шилжилт зогсох ба бактерийн эсийн цитоплазмын

мембраны сонгон нэвтрүүлэх шинж чанарт ч өөрчлөлт [Hassan Hassanzadazar 2012, Johanningsmeier SD 2012] ордог. Ингэснээр микроорганизмын бодисын солилцооны хэвийн үйл ажиллагаа алдагддаг. Микроорганизмын зүйл тус бүрийн амьдралын үйл ажиллагаа рН-ын тодорхой хязгаарт хэвийн явагдана. Тухайлбал, ихэнх дрожж, хөгц мөөгөнцрийн үржих хамгийн тохиромжтой орчны рН нь 5-6 орчим байдаг бол бактериуд сулавтар хүчиллэг буюу саармагдуу (рН=6.8-7.3) орчинд сайн өсөж үржинэ. Харин хөгц мөөгөнцрүүд орчны рН-ын өөрчлөлтийн өргөн хүрээнд ( $1 < \text{pH} < 11$ ) амьдардаг байна.

Сүүн хүчлийн бактерийн пробиотик шинж чанарын нэг үзүүлэлт нь орчныг хүчиллэг болгохын зэрэгцээ хүчиллэг орчны нөлөөг тэсвэрлэх [Jie Yu, Wa Gao, Manjun Qing, Zhihong Sun 2012] мөн хоол боловсруулах замаас ялгарах шүүрэл тухайлбал цөсний хүчлийн нөлөөнд тэсвэртэй [Hassan Hassanzadazar 2012, Johanningsmeier SD 2012] байх явдал юм. Бидний судалгаагаар сонгон шалгаруулсан сүүн хүчлийн савханцруудын хүчил тэсвэрлэх идэвхийг рН 4.0 болон 3.5-тай орчинд тодорхойлоход уг өсгөврүүд бүрэн тэсвэртэй байлаа. Өөрөөр хэлбэл өсгөвөр 32d, 44c, 48c хувьд 88.5-аас дээш хувийн колони ургаж байгаа нь тэдний ургалтанд орчны хүчиллэг нөлөөлөхгүй байгааг илтгэж байна. Эдгээр шинж чанар нь тухайн өсгөврүүдийг эмчилгээ сэргийлэлтийн зориулалтаар ашиглах пробиотик бүтээгдэхүүний эх материалаар сонгох бүрэн боломжтойг харуулж байгаа чухал үзүүлэлтийн нэг юм.

Сүүн хүчлийн савханцруудын эмчилгээ сэргийлэлтийн ач холбогдлыг үнэлэх чухал шалгууруудын нэг бол тэдгээрийн антибиотикийн үйлчлэлд тэсвэртэй байх чанар буюу эмийн эмчилгээтэй хослон хэрэглэх боломжийг илрүүлэх явдал юм. Энэ үзэл баримтлалын үүднээс сүүн хүчлийн савханцруудын антибиотикийн үйлчлэлд хэр зэрэг тэсвэртэй, цаашилбал

ямар антибиотиктой хавсран хэрэглэх боломжтойг тодорхойлохыг чухалчилсан билээ [Demberel Sh, Dugersuren J 2016, Khandsuren B 2013, Gamal Fadl M 2014]. Энэ чиглэлээр явуулсан туршилтын дүнгээс харахад 10 төрлийн антибиотикийн зэрээнцэг *L.helveticus 44c*  $8.9 \pm 0.87$  мм, *L.helveticus 40c*  $9.4 \pm 0.96$  мм, *L. bulgaricus 65b*  $10.0 \pm 1.82$  мм-ийн хүрээ үүсгэж байлаа. Энэхүү үр дүн нь эдгээрийг эмчилгээ сэргийлэлтийн зориулалтаар дангаар нь болон дээрх антибиотиктой хавсран хэрэглэх боломжтойг харуулж байна.

Өсгөврүүдийн нэгж эзэлхүүнд агуулагдах бактерийн тоог түүний өсгөвөржиж буй цагуудаар судлан тогтоох явдал судалгааны төдийгүй цаашилбал пробиотик бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэлийн технологи болон хэрэглээний шийдлийг боловсруулахад нэн түрүүн шаардагдах зүйл юм. Иймээс бүх шинж чанараараа бусдаасаа давуу байсан *L.helveticus 44c*, *L.bulgaricus 65b* өсгөврүүдийн нэгж эзэлхүүнд агуулагдах бактерийн тоог өсгөвөрлөснөөс хойшхи 6 цагаас эхлэн (12, 24, 48, 72, 96) тодорхой цагуудаар судлан (CFU/ml)-ийг тогтооход өсгөвөржилтийн 48-72 дахь цагт хамгийн өндөр түвшинд хүрч 96 цагаас эхлэн буурах хандлагатай байлаа. Тухайлбал *L. helveticus 44c* ургалтын 48 дахь цагт  $2176 \times 10^{10}$  CFU/ml, *L.bulgaricus 65b* 72 дахь цагтаа  $2503 \times 10^{10}$  CFU/ml хэмжээнд хүрч байгаа нь пробиотик бүтээгдэхүүнд ашиглах омгийн шаардлагад бүрэн нийцэж байлаа. Үүнээс үзвэл тэдгээрийг пробиотик бүтээгдэхүүний эх материал болгон ашиглахад үйлчилгээний идэвх 24-72 цагтаа өндөр түвшинд хүрэх магадлалыг харгалзах шаардлагатай ажээ.

Судалгааны явцад гарган авсан *L.helveticus 44c*, *L.bulgaricus 65b* өсгөврүүдийн монголд өргөн тархсан хүн, малын ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгч омгуудын эсрэг идэвхтэй үйлчилгээ үзүүлэхийн зэрэгцээ хоол боловсруулах замын шүүрлийн үйлчлэл болон антибиотикийн нөлөөг сайтар тэсвэрлэж,



хадгалалтын явцад шинж чанараа алдахгүй байгаа зэрэг үндэслэлүүд нь тэдгээрийг пробиотик бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэлийн

технологид ашиглах боломжийг бидэнд олгож байна.

## ДҮГНЭЛТ

1. Монгол Алтайн нурууны Казах үндэстний уламжлалт исгэлэн сүүн бүтээгдэхүүнээс ялгасан сүүн хүчлийн бактериуд нь гэдэсний эмгэг төрүүлэгчдэд үзүүлэх антагонист идэвх, антибиотикийн үйлчилгээг болон хүчиллэг орчинг тэсвэрлэх чанар сайтай байгаа нь тогтоогдлоо.

2. *L. helveticus* 44c, *L.bulgaricus* 65b

өсгөврүүд нь антибиотиктэй хослох, монголд өргөн тархсан хүн, малын ходоод гэдэсний эмгэг төрүүлэгч омгуудын эсрэг үйлчилгээтэй, ходоод гэдэсний хүчил шүлтийн нөлөөнд тэсвэртэй зэрэг шинж чанарт тулгуурлан эдгээрийг зохицуулах үйлчилгээтэй хүнс буюу пробиотик бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэлд ашиглах боломжтой гэж үзэж байна.

## НОМ ЗҮЙ

1. Demberel Sh, Dugersuren J, Koichi Watanabe “Diversity of Lactic acid bacteria and yeasts in the Mongolian traditional fermented milk products is a rich source for probiotic strains”. XIX Международная научно-практическая конференция «Аграрная наука - сельскохозяйственному производству Сибири, Казахстана, Монголии, Беларуси и Болгарии» 19-21 Окт., Беларусь, 2016 г. Минск 139
2. Khandsuren B, Dugersuren J, Demberel Sh, “Results of the study on antagonistic effects of pure isolates of Lactic Acid Bacteria from fermented mares milk starter” Аграрная наука-сельскохозяйственному производству Монголии, Сибирского региона, Казахстана и Болгарии, 29-30 МАЯ 2013 г. Улаанбаатар, 124-125 стр
3. <http://textbookofbacteriology.net/lactics.html>
4. Jie Yu, Wa Gao, Manjun Qing, Zhihong Sun “Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles in Sichuan, China, J. Gen. Appl. Microbiol., 58, 163-172 (2012)
5. Batdorj B, Dalgalarrondo M, Choiset Y, et.al “Purification and characterization of two bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Mongolian airag”, 2006 Oct <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16968295>
6. <http://microbiologyscience.blog.gogo.mn/read/entry452071>
7. Hassan Hassanadazar, Ali Ehsani, Karim Mardani, and Javad Hesari “Investigation of antibacterial, acid and bile tolerance properties of lactobacilli isolated from Koozeh cheese” 2012. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4299980/>
8. Johanningsmeier SD, Franco W, Perez-Diaz, McFeeters RF. “Influence of sodium chloride, pH, and lactic acid bacteria on anaerobic lactic acid utilization during fermented cucumber spoilage” J Food Sci. 2012 Jul;77(7):M397-404. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02780.x <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22757713>
9. Adamberg K, Kask S, Laht TM, Paalme T. “The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH-auxostat study” Int J Food Microbiol. 2003 Aug 15;85(1-2):171-83. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12810281>
10. Gamal Fadl M. Gad, Ahmed M. Abdel-Hamid, Zeinab Shawky H. Farag “Antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from some pharmaceutical and dairy products” Braz J Microbiol. 2014; 45(1): 25–33. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4059307/>

## STUDY ON PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM FERMENTED DAIRY PRODUCTS

Khandsuren B<sup>1</sup>\*, Demberel Sh<sup>2</sup>, Dugersuren J<sup>2</sup>

1- School of Veterinary Medicine, Mongolia

2-Institute of Veterinary Medicine, Mongolia

\*corresponding author: e-mail: khanduul@yahoo.com

**Abstract:** We isolated lactic acid bacteria from fermented dairy products, fermented mare's milk and cow yogurt, which are traditionally produced by Mongolian herders, and carried out *in vitro* study of their probiotic properties. Culture 44c is 100% identical to species *Lactobacillus helveticus* (*L.helveticus*) or a strain KT368987, isolated from Mongolian airag, while culture 65b is 99% identical to *Lactobacillus delbreuckii* subsp. *bulgaricus* (*L.bulgaricus*) or strain CP016393 isolated from camel fermented milk in Gobi-Altai aimag and characteristics of both cultures were the best among all cultures obtained in the present study. Isolated lactic acid rods completely inhibited the growth of gastro-intestinal pathogens which spread among livestock (*E.coli* 09, *E.coli* 026, *S.abortusovis* 0068) and Mongolian population (*S.aureus* 5695, *S.aureus* 5068, *S.aureus* SA27, *E.coli* 10963, *E.coli* 10977). As well as, we determined the properties, including resistance to the acidic environment of digestive tract and activity when using with common antibiotics, which are the basic requirements for bacterial strains used in functional food production.

According to the result, when pH of the environment reached 3.5 or 4.0, growth rate of the strains was over 80 percent and the lactic acid strains were variably resistant to 10 antibiotics of 5 classes (penicillin, aminoglycoside, cephalosporin and macrolide). For example; Formation of  $8.9 \pm 0.87$  mm zone around all antibiotic discs for culture 44c of *L.helveticus* demonstrates the culture can be used in combination with these antibiotics for therapeutic purposes. Besides of these characteristics, CFU per ml was determined by growing on MRS nutrient medium under anaerobic condition. Moreover, CFU/ml was determined because its spectrum of activity depends on the number of bacteria per 1ml. *L.helveticus* 44c reached its highest volume ( $2503 \times 10^{10}$ ) at 48<sup>th</sup> hour of growth, while *L.bulgaricus* 65b reached its highest volume ( $2503 \times 10^{10}$ ) at 72<sup>th</sup> hour of growth. After they reached their highest volume, both of them tended to decrease. For this reason, these strains, especially *L.helveticus* 44c and *L.bulgaricus* 65b strains, are possible to be used as a source material for probiotics or functional food products.

**Keywords:** *Lactic acid bacteria, probiotic, antagonist activity, L. helveticus, L. delbrueckii ssp. bulgaricus;*