



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Био-Веста»

В.П. Илизин



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Арт-стом компани»

И.А. Зиборов

ОТЧЕТ

Экспериментальное исследование жизнеспособности бактерий *Bifidobacterium longum* MC-42 в естественной среде метаболитов и ростовых факторов к воздействию активных форм кислорода с последующей обработкой высокоамплитудным низкочастотным ультразвуком.

Руководитель исследования: д.б.н. А.И. Калмыкова (ООО «Био-Веста»)

Сроки проведения исследования: 21.12.2016 – 25.12.2016.

Материалы и методика эксперимента.

В исследовании использована бактериальная культура *Bifidobacterium longum* MC-42. Общий объем пробиотик-содержащей среды 1600мл.

Исходная концентрация бифидобактерий 1×10^9 КОЕ/мл

Озонирование проведено на аппарате «Комплекс озono-ультразвуковой оториноларингологический «Тонзиллор 3ММ[®]» (паспорт ГКТЕ.941139.048 ПС) /концентрация озона на выходе комплекса при подаче рабочего газа (воздуха) в количестве 0,5л/мин, не более 5 г/м^3 , производительность по озону 0,15г/ч.

Ультразвуковая обработка проведена на аппарате «Комплекс озono-ультразвуковой оториноларингологический «Тонзиллор 3ММ[®]» (паспорт ГКТЕ.941139.048 ПС) в режиме непрерывного и прерывистого ультразвукового озвучивания (с частотой 0,5Гц) и использованием ультразвуковых колебаний частот диапазона $26,5 \pm 1,5 \text{ кГц}$.

Место проведения эксперимента: Фармакопейный штамм *Bifidobacterium longum* MC-42 предоставлен ООО «Био-Веста». Культивирование микрофлоры проведено в микробиологической лаборатории ООО «Био-Веста». Техническое оборудование (озотрон, ультразвуковой генератор) предоставлены ООО «Арт-Стом Компани». Эксперимент осуществлен на базе ООО «Арт-Стом Компани».

Цель эксперимента: установить устойчивость *Bifidobacterium longum* MC-42 к деструктивному действию активных форм кислорода и низкочастотного ультразвука при непрерывной и прерывистой подаче ультразвуковых колебаний.

Перспективы использования результатов эксперимента: разработка метаболитного пробиотика; разработка методов местного лечения заболеваний слизистых оболочек ЛОР органов и гениталий БАД «Биовестин» с использованием ультразвук-опосредованных методик контактного лечения.

Ход эксперимента:

Сформировано 5 образцов пробиотического раствора *Bifidobacterium longum* MC-42 с концентрацией бактерий $\times 10^9$ КОЕ/мл, на водной основе по 50 мл в стерильных стеклянных флаконах с притертой крышкой

1. Тестируемые культуры подвергнуты деструктивному действию:

- 1.1. Образец №1: контакт с излучателем озона, выдержка 1 час, с образование активных форм кислорода на конец выдержки – 0,15г.
- 1.2. Образец №2: контакт с излучателем озона, выдержка 1 час, с образование активных форм кислорода на конец выдержки – 0,15г. Последующая обработка ультразвуком с частотой $26,5 \pm 1,5$ кГц, амплитудой колебаний 60 ± 20 мкм (волновод ВИ 3) в течение 60 секунд.
- 1.3. Образец №3: контакт с излучателем озона, выдержка 30 минут, с образование активных форм кислорода на конец выдержки – 0,07г.
- 1.4. Образец №4: контакт с излучателем озона, выдержка 30 минут, с образование активных форм кислорода на конец выдержки 0,07г, последующая обработка ультразвуком с частотой $26,5 \pm 1,5$ кГц, амплитудой колебаний 60 ± 20 мкм в течение 60 секунд.
- 1.5. Образец №5: контакт с излучателем озона, выдержка 30 минут, с образование активных форм кислорода на конец выдержки – 0,07г, последующая обработка ультразвуком с частотой $26,5 \pm 1,5$ кГц, амплитудой колебаний 60 ± 20 мкм в течение 60 секунд в прерывистом режиме с частотой 0,5Гц.

2. Посевы проведены на тиогликолевую среду, культивирование осуществлено при температуре 37°C в течение 48 часов, после чего проведен подсчет колоний в соответствующем разведении.

Результаты культивирования опытных образцов.

тест-культуры	Определение количества бифидобактерий (37°C), КОЕ/см ³	Кислотность, °Т
образец №1	6×10^9	51
образец №2	5×10^9	51
образец №3	4×10^9	51
образец №4	7×10^9	51
образец №5	5×10^9	51

Закключение: во всех тестируемых образцах определены жизнеспособные микроорганизмы, в титре не менее, чем $\times 10^9$ КОЕ/мл.

Выводы:

1. Барботирование (генерирование активных форм кислорода) водно-эмульсионного раствора, содержащего *Bifidobacterium longum* MC-42, ростовые факторы и собственные продукты метаболизма бифидобактерий, в течение 30 и 60 секунд не вызывает гибели бифидобактерий, приводящей к снижению титра ниже, чем $\times 10^9$ КОЕ/мл.
2. Низкочастотное высокоамплитудное ультразвуковое воздействие в течение 60 секунд в непрерывном или прерывистом режиме не вызывает гибели *Bifidobacterium longum* MC-42 при нахождении их в среде, содержащей ростовые факторы и собственные продукты метаболизма.
3. При физиотерапевтическом воздействии на слизистые оболочки с использованием ультразвук-опосредованных методик при постоянном или прерывистом режиме ультразвука с частотой $26 \pm 1,5$ кГц и амплитудой колебания 60 ± 20 мкм жизнестойкость *Bifidobacterium longum* MC-42 гарантирована.

Руководитель исследования:



А.И. Калмыкова

Заключение: во всех тестируемых образцах определены жизнеспособные микроорганизмы, в титре не менее, чем $\times 10^9$ КОЕ/мл.

Выводы:

1. Барботирование (генерирование активных форм кислорода) водно-эмульсионного раствора, содержащего *Bifidobacterium longum* MC-42, ростовые факторы и собственные продукты метаболизма бифидобактерий, в течение 30 и 60 секунд не вызывает гибели бифидобактерий, приводящей к снижению титра ниже, чем $\times 10^9$ КОЕ/мл.
2. Низкочастотное высокоамплитудное ультразвуковое воздействие в течение 60 секунд в непрерывном или прерывистом режиме не вызывает гибели *Bifidobacterium longum* MC-42 при нахождении их в среде, содержащей ростовые факторы и собственные продукты метаболизма.
3. При физиотерапевтическом воздействии на слизистые оболочки с использованием ультразвук-опосредованных методик при постоянном или прерывистом режиме ультразвука с частотой $26 \pm 1,5$ кГц и амплитудой колебания 60 ± 20 мкм жизнестойкость *Bifidobacterium longum* MC-42 гарантирована.

Руководитель исследования:



А.И. Калмыкова