

С.А. Риженко,
Г.М. Кременчуцький*,
Д.Г. Крижановський*,
М.Ю. Кожушко*,
Т.В. Дикленко,
І.О. Гамота,
М.О. Бредихина,
О.В. Дробот

ВПЛИВ РІДКОГО ПРОБІОТИКУ «А-БАКТЕРИН» НА МІКРОБІОТУ КИШЕЧНИКУ ОСІБ, ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Дніпропетровська обласна санітарно-епідеміологічна станція
(гол. лікар – д. мед. н., проф. С.А.Риженко)

Дніпропетровська державна медична академія*
(ректор – академік АМН України, д. мед. н., проф. Г.В.Дзяк)

Ключові слова: «А-бактерин»,
пробіотик, мікробіота кишечнику,
туберкульоз легень

Key words: «A-bacterinum»,
probiotic, gut microbiota, pulmonary
tuberculosis

Резюме. Исследованием установлены отклонения в составе микробиоты кишечника у 70% лиц, больных туберкулезом легких. Нормализовалась микрофлора кишечника у лиц, которые приняли курс пробиотика «А-бактерин». Уменьшилось количество лиц с отклонениями от нормы микрофлоры кишечника: *E.coli* на 66,6%, *Lactobacterium* на 33,3%, грибов рода *Candida* на 42,8%. В микробиоте кишечника 4 лиц после курса приема «А-бактерина» определено количество грибов рода *Candida* выше нормы, что будет предметом дальнейших исследований.

Summary. Deviations in structure of intestinal microbiota in 70% of persons with pulmonary tuberculosis was established by the research. Microflora of intestine in persons who received a course of probiotic "A-bacterinum" normalized. A number of persons with deviations of intestinal microflora from the norm decreased: *E.coli* by 66,6%, *Lactobacterium* by 33,3%, fungi of sort *Candida* by 42,8%. A number of fungi of *Candida* type exceeding the norm in intestinal microbiota was revealed in 4 persons after a course of "A-bacterinum". This will be a subject of the further researches.

На тлі епідемії туберкульозу, поширення медикаментозно стійких штамів мікобактерій туберкульозу (МБТ) та асоційованих захворювань на туберкульоз та ВІЛ-інфекцію знизилась ефективність традиційної терапії туберкульозу [5, 10].

Дослідження, що проведені у Латвії і Донецьку, свідчать про майже дворазове зростання рівня поширеності множинної медикаментозної стійкості серед хворих на туберкульоз пацієнтів з ВІЛ-інфекцією в порівнянні із хворими на туберкульоз пацієнтами, що не мають ВІЛ.

Питома вага пацієнтів із множинною медикаментозною стійкістю серед осіб із вперше діагностованим захворюванням на туберкульоз склала 19,4% у Молдові, 16% - у Донецьку (Україна), 15% - у Томській області (Російська Федерація) і 14,8% - у Ташкенті (Узбекистан) [15].

Таким чином, вирішення проблеми підвищення ефективності лікування туберкульозу з кожним роком стає усе більш актуальним, що диктує необхідність пошуку нових підходів у лікуванні туберкульозу.

Загальновідомо, що порушення мікробіоти

відмічається при більшості інфекційних захворювань. На сьогодні перспективним коректором та регулятором мікробіоти організму людини є пробіотики [8, 16].

З позицій концепції, яка розглядає мікробіоту організму людини як орган, що підтримує гомеостаз і життєдіяльність організму людини, в т.ч. підвищує імунітет, проявляє детоксикаційний і антимікробний ефекти [1,6,11,12].

Істотно те, що пробіотик «А-бактерин» необхідно розглядати як суттєвий компонент антибактеріального лікування. Обґрунтованість наших пропозицій і підтверджує попередній позитивний досвід дослідження із застосуванням «А-бактерину» у хворих на туберкульоз [4].

Метою дослідження було вивчення впливу на мікробіоту кишечнику пробіотику «А-бактерин» у хворих на туберкульоз легень (ТБЛ).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідження було включено 20 пацієнтів, які проходили стаціонарне лікування на базі легенево-туберкульозних відділень Дніпропетровського обласного комунального клінічного лікувально-профілактичного об'єднання «Фтизі-

атрія» з приводу вперше діагностованого туберкульозу легень.

Критеріями відбору пацієнтів були наявність порожнин розпаду у легенях, відсутність супутньої гастроентерологічної патології та стабільність перебігу туберкульозного процесу.

Дослідну групу склали 10 пацієнтів (7 чоловіків та 3 жінки). Середній вік чоловіків 39 років, жінок – 52 роки. Розподіл за клінічними формами туберкульозного процесу – інфільтративний ТБЛ у 7 хворих, дисемінований - у 3 хворих, у 6 хворих з 10 виділені мікобактерії туберкульозу (МБТ).

До контрольної групи увійшли 10 осіб (8 чоловіків та 2 жінки). Середній вік чоловіків склав 46 років, жінок – 60 років. Розподіл за клінічними формами ТБ процесу – дисемінований ТБЛ у 8 хворих, фіброзно-кавернозний - у 2 хворих, у 9 хворих з 10 виділені МБТ.

Усім хворим проводилося лікування за I категорією згідно з наказом МОЗ України [2] за схемою: ізоніазид 300 мг, рифампіцин 600 мг, піразинамід 2000 мг, етамбутол 1600 мг, стрептоміцин 1000 мг та доповнення прийомом полівітамінів, гепатопротекторів, препаратами симптоматичної терапії. Тривалість курсу лікування хворих дослідної та контрольної груп склала 3 місяці.

У дослідженні використана рідка добавка дієтична «А-бактерин» з кількістю життєздатного пробіотичного мікроорганізму *Aerococcus viridans* у препараті не менш $1 \cdot 10^8$ колонієтвірних одиниць в 1 мл (КУО/мл) відповідно до технічних умов ТУ У 15.8-01984033-001:2006 від 16.02.2006.

Пробіотичний препарат «А-бактерин» хворі дослідної групи вживали згідно з інструкцією по застосуванню: по 5 мл 2 рази на день (перший прийом – через 20 хвилин після вживання антимікобактеріальних препаратів, другий – за 30 хвилин до нічного відпочинку) протягом 28 днів.

Кількісне і якісне дослідження на окремі види мікрофлори кишечника проводили відповідно до методичних рекомендацій [2, 13].

При дослідженні проводився кількісний підрахунок окремих видів бактерій (*Bifidobacterium*, *Lactobacterium*, *S.aureus*, гриби роду *Candida spp.*, загальна кількість *E.coli* з нормальною ферментативною активністю), що виявлялись у розведеннях 1 граму випорожнень. Для цього готувався ряд розведень від 10^{-1} до 10^{-9} , які висівали на елективні середовища: лактоагар, жовточно-сольовий агар, середовище Сабуро та 5 % кров'яний агар, Ендо-агар, тіогліколеве середовище.

Для виявлення зазначених вище видів мікроорганізмів проводили висів 0,1 мл субстрату на поживні середовища із розведень:

- 10^{-3} – на жовточно-сольовий агар для визначення *S.aureus*;
- 10^{-3} - на середовище Сабуро для визначення грибів роду *Candida*;
- 10^{-5} - на середовище Ендо для визначення загальної кількості *E.coli* з нормальною ферментативною активністю;
- 10^{-5} – на лактоагар для визначення *Lactobacterium*;
- 10^{-7} - 10^{-9} - на середовище Блаурока для визначення *Bifidobacterium*.

Для отримання ізольованих колоній матеріал рівномірно розподіляли по поверхні щільних поживних середовищ за допомогою шпателью.

Посіви вирощували у режимі:

- на середовищі Ендо – 24 години при 37°C ;
- на жовточно - сольовому агарі – 48 годин при 37°C ;
- на середовищі Сабуро – 48 годин при 37°C та ще 72 години при кімнатній температурі;
- на лактоагарі – 48 годин при 37°C в умовах підвищеної концентрації CO_2 (8-10%);
- на середовищі Блаурока - 72 години при 37°C .

Після інкубації проводили ідентифікацію мікроорганізмів згідно з рекомендованими методами [3, 9].

Концентрацію мікроорганізмів визначали за формулою [12]: $S = n \cdot a \cdot b$, де S – кількість мікроорганізмів в 1 г фекалій; n – кількість колоній на чашці; a – коефіцієнт посівної дози (при посіві 0,1 мл = 10); b – ступінь розведення матеріалу.

Результати дослідження статистично оброблені [7]. Дослідження проведено у відповідності до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етику медичних досліджень [14].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень мікробіоти дистального відділу кишкового тракту осіб дослідної та контрольної груп наведені у табл. 1.

Як свідчать дані таблиці, після курсу прийому «А-бактерину» спостерігались позитивні зміни мікробіоти кишечника.

Зміни показників мікробіоти характеризуються нормалізацією концентрації *E.coli* з нормальною ферментативною активністю у 4 з 6 осіб (66,6%), *Lactobacterium* в 1 випадку з 3 (33,3%), *S.aureus* в 1 випадку з 1, грибів роду *Candida spp.* у 3-х випадках з 7 (42,8%).

Динаміка показників мікробіоти в осіб, які задіяні у досліді (n=10)

Мікрофлора	Норма КУО/г	Кількість осіб:			
		дослідної групи		контрольної групи	
		до прийому препарату	після прийому препарату	в перший день досліді	через 28 днів
Загальна кількість <i>E.coli</i> нижче норми	10^6-10^8	6	2 *	3	4
Лактобактерії нижче норми	$>10^6$	3	2	2	4
Біфідобактерії нижче норми	$>10^7$	0	0	0	0
<i>S.aureus</i> вище норми	$<10^4$	1	0	1	2
<i>Candida spp.</i> вище норми	$<10^4$	7	4 *	7	8

Примітка: * — різниця показника порівняно з попереднім значенням вірогідна ($p < 0,05$)

Позитивних змін у мікробіоті осіб контрольної групи не встановлено, при тому, що на 2 випадки збільшилося кількість осіб із вмістом *Lactobacterium* нижче норми.

Відзначені зміни і в концентрації мікрофлори, середні значення якої надані у табл.2.

У осіб, які приймали «А-бактерин», відзначено вірогідне підвищення середньої концентра-

ції у мікробіоті лактобактерій та зниження *S.aureus* і грибів роду *Candida spp.*

Якщо відзначити, що в попередніх дослідженнях [12] *A.viridans* in vitro не виявляв антагонізму до грибів роду *Candida spp.*, то виявлений ефект можна віднести до загальної дії «А-бактерину» щодо нормалізації мікробіоти.

Вплив пробіотику «А-бактерин» на концентрацію мікроорганізмів у мікробіоті кишечника осіб, хворих на туберкульоз легень (M±m; КУО/г)

Мікрофлора	Дослідна група (n=10)		Контрольна група (n=10)	
	до прийому препарату	після прийому препарату	в перший день досліді	через 28 днів
Загальна кількість <i>E.coli</i>	$1 \cdot 10^7 \pm 6,2 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7 \pm 4,4 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^7 \pm 7,6 \cdot 10^6$	$9 \cdot 10^6 \pm 3,7 \cdot 10^5 *$
Лактобактерії	$3 \cdot 10^7 \pm 1,2 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^7 \pm 3,1 \cdot 10^6 *$	$4 \cdot 10^7 \pm 1,5 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7 \pm 9,9 \cdot 10^6$
Біфідобактерії	$7,3 \cdot 10^8 \pm 1,4 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^8 \pm 1,5 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7 \pm 1,5 \cdot 10^6$	$9 \cdot 10^8 \pm 1,1 \cdot 10^7$
<i>S.aureus</i>	$1 \cdot 10^5 \pm 9,9 \cdot 10^4$	$<1 \cdot 10^4 *$	$2,3 \cdot 10^5 \pm 2,2 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5 \pm 2,3 \cdot 10^4$
<i>Candida spp.</i>	$1,3 \cdot 10^5 \pm 8,8 \cdot 10^4$	$4,7 \cdot 10^4 \pm 3 \cdot 10^3 *$	$2 \cdot 10^5 \pm 5,0 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^4 \pm 5,0 \cdot 10^3 *$

Примітка: * — різниця показника порівняно з попереднім значенням вірогідна ($p < 0,05$)

В осіб, які приймали «А-бактерин», не відмічено побічної дії, їх загальний стан і самопочуття залишались задовільними протягом всього періоду вживання препарату.

Таким чином, встановлено порушення у складі мікробіоти кишечника до прийому препарату у 70% осіб, хворих на туберкульоз легень. За результатами дослідження мікрофлори дисталь-

ного відділу кишечника після 28-денного курсу застосування пробіотичного препарату «А-бактерин» відзначені позитивні зміни у складі мікробіоти. Кількість осіб із відхиленнями від норми мікрофлори кишечника зменшилась щодо *E.coli* на 66,6%, *Lactobacterium* на 33,3%, грибів роду *Candida* на 42,8%.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено відхилення у складі мікробіоти кишечника у 70% осіб, хворих на туберкульоз легень.

2. В осіб, які прийняли курс пробіотику «А-бактерин», зменшилось відхиленнями від норми показників мікрофлори кишечника: *E.coli* на 66,6%, *Lactobacterium* на 33,3%, грибів роду *Candida* на 42,8%.

3. Визначено, що у мікробіоті 4 осіб після прийняття курсу «А-бактерину» кількість грибів роду *Candida* вище за норму.

Вивчення їх взаємодії із пробіотичним мікроорганізмом *A.viridans* буде предметом подальших досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белоусова Е.А. Всемирный конгресс по гастроэнтерологии (Монреаль, 2005) // Фарматека. – 2006. – № 1. – С. 17–21.
2. Діагностика та лікування дисбактеріозу кишечника у дітей та дорослих: Метод. рекомендації / Дзяк Г.В., Грищенко І.І., Шостакович-Корецька Л.Р. Залевський В.І. – Дніпропетровськ, 2000. – 32 с.
9. Діагностика та лікування дисбактеріозу кишечника у ревматологічних хворих: Метод. рекомендації / Лисенко Г.І., Білко І.П., Нікольська О.І. та ін. – К.: Знання, 1999. – 22 с.
10. Кожушко М.Ю., Риженко С.А. Антитоксична дія А-бактерина у хворих на туберкульоз легень // Мед. перспективи. – 2003. – № 2. – С. 69–71.
11. Краткое руководство по туберкулезу для работников первичной медико-санитарной помощи. – 2004. Всемирная организация здравоохранения Европейское региональное бюро. [Электронный ресурс]. <http://portal.arm.synisys.com/eh/resources/mdlDoc/760-r.pdf>
12. Кременчуцкий Г.Н., Рыженко С.А., Вальчук С.И. Роль микроэкологии организма человека и принципы ее коррекции. - Днепрпетровск: Пороги, 2003. – 230 с.
13. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Медицина, 1990. – 352 с.
14. Микроэкологические изменения кишечника и их коррекция с помощью лечебно-профилактических препаратов / Бондаренко В.М., Грачева Н.М., Мацулевич Т.В., Воробьев А.А. // Журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2003. – № 4. – С. 66–76.
15. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ Минздрава СССР № 535 от 22.04.1985.
16. План «Остановить туберкулез» для 18 приоритетных стран европейского региона ВОЗ 2007-2015 гг. – 2008. Всемирная организация здравоохранения Европейское региональное бюро. [Электронный ресурс]. <http://www.euro.who.int/Document/E91049R.pdf?language=Russian>
17. Рыженко С.А. Влияние А-бактерина на гомеостаз организма человека при различных патологических состояниях // Сб. материалов междунар. науч.-практ. конф. памяти Г.И. Гончаровой «Пробиотические микроорганизмы – современное состояние вопроса и перспективы использования» / Под ред. В.А. Алешкина. – М., 2002. – С. 41–42.
18. Риженко С.А. Гігієнічна оцінка аерококів у мікробіоценозах організму людини в умовах антропогенного забруднення навколишнього середовища: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. – К., 2005. – 34 с.
19. Харченко Н.В., Черненко В.В. Современные подходы к коррекции дисбактериоза кишечника: Метод. рекомендации. – К., 2000. – 28 с.
20. Хельсинская декларация Всемирной медицинской ассоциации (новая редакция). Этические принципы медицинских исследований, проводимых на людях // Фарматека. – 2001. – № 6. – С. 58–62.
21. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Fourth global report. – 2008. World Health Organization. [Электронный ресурс]. http://www.who.int/entity/tb/publications/2008/drs_report_4_26feb08.pdf
22. Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice / Reid G., Jass J., Sebulsky M. T., McCormick J. K. // Clin. Microbiol. Rev. – 2003. – N 16. – P. 658–672.

