



УДК 616-08:615.363

ПСАХИС І.Б., МАКОВСКАЯ Т.Е.

Государственное предприятие «Научно-технический инженерный центр проблем водоочистки и водосбережения (НТИЦ «Водообработка») Физико-химического института им. А.В. Богатского Национальной академии наук Украины»

Главный военно-медицинский клинический центр «ГВКГ»

## СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКОВ ГРУППЫ САМОЭЛИМИНИРУЮЩИХСЯ АНТАГОНИСТОВ В ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**Резюме.** В статье рассматривается вопрос применения пробиотиков в современной клинике инфекционных болезней. Уделено внимание таким препаратам, как Биоспорин и Субалин, исследованию культур микроорганизмов, полученных из различного отделяемого у 34 992 пациентов, и чувствительности микроорганизмов к этим препаратам.

**Ключевые слова:** пробиотики, микроорганизмы, штамм, чувствительность.

Способность спорообразующих бактерий оказывать антагонистическое по отношению к патогенной и условно-патогенной флоре и пробиотическое действие привела к разработкам на их основе препаратов, отнесенных к группе самоэлиминирующихся антагонистов (СЭА) [3].

На сегодняшний день в мире создано более полусотни таких лекарственных средств. Хотя большинство бактерий, обладающих пробиотическими свойствами, являются представителями семейств *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, все чаще в качестве пробиотиков стали использоваться и спорообразующие бактерии из рода *Bacillus* [2]. В настоящее время в мире выпускается и реализуется огромное количество лекарственных средств, биологически активных добавок и продуктов функционального питания, которые содержат не только молочнокислые, но и спорообразующие бактерии пробиотического действия [8]. Этот вопрос является актуальным, если принимать во внимание тот факт, что целесообразность искусственного заселения нормальной микрофлоры остается дискуссионной темой в научном мире.

С учетом данных об антагонистическом действии спорообразующих бактерий по отношению к представителям патогенной флоры нами было принято решение изучить *in vitro* действие препаратов на основе *B.subtilis* на различные штаммы микрооргани-

мов: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterobacter aerogenes*, рода *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, грибы рода *Candida*, *Pseudomonas aeruginosa*. Данные микроорганизмы наиболее часто выделяются из различного клинического материала (урогенитальное отделяемое, моча, кал, отделяемое из глаз и ушей, отделяемое из носа и зева, эякулят, секрет предстательной железы, содержимое акне, отделяемое из ран, мокрота). Выявление чувствительности вышеуказанных микроорганизмов к различным лекарственным средствам, оказывающим антагонистическое действие по отношению к ним, играет важную роль в лечении ряда заболеваний.

В качестве эталонных препаратов были выбраны Биоспорин и Субалин (препараты, содержащие различные штаммы *B.subtilis*). Наш выбор основан на том, что бациллы, содержащиеся в этих лекарственных препаратах, выделяют антибиотикоподобные вещества, так называемые бактериоцины и микоцины [3]. *Bacillus subtilis* выделяют в просвет кишечника субтилизин и ферменты, которые помогают разрушать и выводить эндотоксины патогенной и условно-патогенной флоры. Кроме того, ферменты

© Псахис І.Б., Маковская Т.Е., 2014

© «Здоровье ребенка», 2014

© Заславский А.Ю., 2014

*Bacillus subtilis* принимают участие в процессе пристеночного пищеварения [3]. Дипиколиновая кислота, также выделяемая *Bacillus subtilis*, является, с одной стороны, дополнительным фактором эрадикации патогенной и условно-патогенной флоры, с другой стороны, способствует росту собственной нормофлоры [3].

Кроме того, наш выбор связан и с полученными нами ранее данными. На базе микробиологической лаборатории ГП «НТИЦ “Водообработка” ФХИ им. А.В. Богатского НАН Украины» с 2000 по 2003 год были проведены исследования воды реки Днестр на всех этапах очистки, а также была исследована вода, прошедшая дополнительную очистку и озонирование на водоочистных сооружениях. Интересно, что в реке и на всех этапах очистки были обнаружены бактерии рода *Bacillus*. Виды бактерий рода *Bacillus* (*Bacillus cereus* 17a, *B.cereus* 25, *B.cereus* 26, *B.coagulans* 21a, *B.laterosporus* 17a, *B.subtilis*) являются непатогенными денитрифицирующими бактериями, и, кроме того, они проявляют, как уже говорилось ранее, антагонистическую активность по отношению к большинству условно-патогенных бактерий. Штаммы этих бактерий снижали количество представителей условно-патогенной флоры рода *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* и грибов рода *Candida*, которые обнаруживаются на механических и угольных фильтрах в любых установках очистки воды и по истечении времени начинают попадать в воду, повторно загрязняя ее.

Оба исследуемых лекарственных средства принадлежат к группе самоэлиминирующихся антагонистов, но содержат разные штаммы бацилл и имеют некоторые отличия в своем механизме действия.

Так, препарат Биоспорин содержит 2 представителей рода *Bacillus* — штаммы *Bacillus subtilis* УКМ В-5007 и *Bacillus licheniformis* УКМ-5514 и характеризуется достаточно выраженным антибактериальным действием. Данное свойство и определяет сферу применения препарата — преимущественно терапия острых кишечных инфекций бактериальной природы, лечение дисбактериоза [10].

Субалин же содержит только штамм *Bacillus subtilis* УКМ В-5020. При этом данный штамм представляет собой модифицированный микроорганизм, который обладает способностью самостоятельно продуцировать альфа-интерферон, что обуславливает наличие противовирусного и иммуномодулирующего действия. Соответственно, сферой применения данного препарата является терапия инфекций вирусной и смешанной (вирусно-бактериальной) природы [11].

Нас заинтересовал вопрос, как эти отличия будут проявляться в отношении действия препаратов на одних и тех же представителей патогенной и условно-патогенной флоры.

## Материалы и методы

С января 2012 по март 2014 г. нами были проведены анализы различного отделяемого у 34 992

обследуемых. Использовались плотные дифференциально-диагностические среды Эндо, Плоскирева, Сабуро, 5% кровяной агар, желточно-солевой агар для выделения и видовой идентификации микроорганизмов. При идентификации бактерий использовались общепринятые классические дифференциально-диагностические среды, системы индикаторные бумажные. Определение видовой принадлежности микроорганизмов проводилось в соответствии с классификацией Bergy (9-е издание «Определителя бактерий Берги», 1984) [4]. Во время идентификации изолированных организмов наряду с общеприменяемыми методами использовали стандартизированные системы АРИ 20Е, АРИ СТАРН (bio Merieux S.A., France) для идентификации энтеробактерий и стафилококков.

Определение чувствительности микроорганизмов к Субалину и Биоспорину проводили следующим образом:

1. Выделенные и определенные до вида культуры микроорганизмов засеивали на среду Мюллер — Хинтона и Сабуро на чашки Петри диаметром 60 мм [9].

2. Субалин и Биоспорин разводили стерильной водой (5 мл воды на 1 флакон препарата) согласно инструкции.

3. Стерильные бумажные диски пропитывали 0,01 мл суспензии культуры пробиотического штамма ( $10^9$  КОЕ/мл) и наносили на среду с бактериальной культурой.

4. Далее определяли зоны задержки роста микроорганизмов, используя аттестованную линейку. Зоны задержки роста оцениваются следующим образом: > 15 мм — чувствительность микроорганизмов к Субалину и Биоспорину, 5–15 мм — умеренная чувствительность, < 5 мм — устойчивость микроорганизмов к препаратам. Данные определены в нашей лаборатории статистическим методом.

Следует обратить внимание на хранение разведенного препарата. **Разведенный препарат хранению не подлежит!**

## Результаты и их обсуждение

На протяжении 2 лет мы изучали культуры микроорганизмов, полученных из различного отделяемого (урогенитальное отделяемое (10 145 образцов), моча (8321), кал (5323), отделяемое из глаз (1253) и ушей (898), отделяемое из носа и зева (7221), эякулят (152), секрет предстательной железы (429), содержимое акне (993), отделяемое из ран (129), мокрота (128)). Чувствительность микроорганизмов к Субалину приведена в табл. 1.

Как видно из табл. 1, Субалин оказывает литическое действие на большинство видов микроорганизмов. Наибольшее его воздействие отмечено на бактерии рода *Staphylococcus* (*S.aureus* (78,4 %), *S.epidermidis* (84,6 %), *S.haemolyticus* (75,3 %), *S.saprophyticus* (92,2 %)). Также отмечается высокая чувствительность бактерий рода *Enterobacteriaceae* (*E.coli* (77,5 %), *E.aerogenes* (63,2 %)) и грибов рода

*Candida* (75,4 %). Несколько меньшую чувствительность демонстрируют *Proteus mirabilis* (32,4 %), *Proteus vulgaris* (51,2 %) и *Pseudomonas aeruginosa* (55,5 %). Однако, на наш взгляд, это связано с тем, что данные микроорганизмы из-за ряда своих биологических свойств проявляют высокую устойчивость ко всем антибактериальным препаратам и бактериологическим фагам, которые получили широкое применение в медицинской практике в последние годы.

Чувствительность микроорганизмов к Биоспорину приведена в табл. 2.

Согласно табл. 2, Биоспорин обладает высокой литической активностью к бактериям рода *Staphylococcus* (*S.aureus* (69,3 %), *S.epidermidis* (88,4 %), *S.haemolyticus* (72,1 %), *S.saprophyticus* (87,9 %)). Чувствительность бактерий рода *Enterobacteriaceae* (*E.coli* (81,2 %), *E.aerogenes* (71,5 %)) немного выше, чем чувствительность этих же бактерий к Субалину. Чувствительность грибов рода *Candida* (44,3 %) и *Pseudomonas aeruginosa* (32,2 %) значительно ниже, чем к Субалину (75,4 и 55,5 % соответственно).

Следует отметить, что Субалин и Биоспорин проявляют высокую литическую активность даже к штаммам с высокой резистентностью к антибиотикам.

В табл. 3 приведена сравнительная характеристика чувствительности микроорганизмов к наиболее часто применяемым антибиотикам и антимикотикам, а также к исследуемым Субалину и Биоспорину.

Как видно из табл. 3, гатифлоксацин более активен, чем Субалин и Биоспорин, в отношении *E.coli* (88,1 %), *Streptococcus spp.* (73,3 %), *E.aerogenes* (78,9 %), однако в остальных случаях Субалин и Биоспорин показывают более высокую литическую активность. Следует отметить, что при этом Субалин и Биоспорин не оказывают токсического действия, свойственного гатифлоксацину.

При этом Субалин и Биоспорин, в отличие от антибактериальных препаратов, демонстрируют выраженное противогрибковое действие (рис. 1), что позволяет оказывать воздействие на патогенную и условно-патогенную флору, не используя дополнительно противогрибковые препараты. Это, в свою очередь, позволяет уменьшить токсическое воздействие вышеуказанных препаратов на организм.

По своему воздействию на грибы рода *Candida* Биоспорин и Субалин выигрывают даже в сравнении с популярным в последние годы противогрибковым препаратом интраконазолом (рис. 2).

Интересным является также наблюдение эффективности широко применяемого на протяжении

**Таблица 1. Чувствительность микроорганизмов к Субалину (%)**

Вид микроорганизма	Чувствительность	Задержка роста	Резистентность
<i>Escherichia coli</i>	77,5	14,0	8,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	84,6	15,4	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	75,3	18,7	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	78,4	16,2	5,4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	92,2	7,4	0,4
<i>Streptococcus spp.</i>	66,6	16,6	16,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	55,5	42,6	1,9
<i>Proteus mirabilis</i>	32,4	46,3	21,3
<i>Proteus vulgaris</i>	51,2	4,5	44,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	63,2	27,3	9,5
<i>Candida</i>	75,4	14,8	9,8

**Таблица 2. Чувствительность микроорганизмов к Биоспорину (%)**

Вид микроорганизма	Чувствительность	Задержка роста	Резистентность
<i>Escherichia coli</i>	81,2	12,5	6,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	88,4	10,4	1,2
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	72,1	22,3	5,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	69,3	18,5	12,2
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	87,9	6,8	6,3
<i>Streptococcus spp.</i>	55,4	26,6	18,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32,2	44,5	23,3
<i>Proteus mirabilis</i>	44,3	47,8	7,9
<i>Proteus vulgaris</i>	47,4	35,6	17,0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	71,5	21,8	6,7
<i>Candida</i>	44,3	27,9	27,8

долгих лет антибиотика цефтриаксона в сравнении с исследуемыми препаратами. Как видно из табл. 3, Субалин и Биоспорин выигрывают по способности подавления УПФ.

Полученные данные позволяют утверждать, что препараты СЭА (Субалин и Биоспорин) демонстрируют выраженную антагонистическую активность по отношению к ряду патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. При этом спектр ее отличается. Так, Субалин более активен в отношении стафило- и стрептококковой флоры. С учетом того факта, что именно эти возбудители чаще всего являются причиной возникновения заболеваний кожи, лор-органов, а также органов дыхания [12], можно говорить о хороших перспективах использования Субалина именно в этих направлениях.

Что касается Биоспорина, то максимальный эффект препарата был выявлен относительно *E.coli* и *E.aerogenes*, которые занимают ведущее место среди причин возникновения бактериальных кишечных инфекций, а также заболеваний мочеполовой сферы [13].

Полученные в результате исследования данные позволяют сделать следующие выводы:

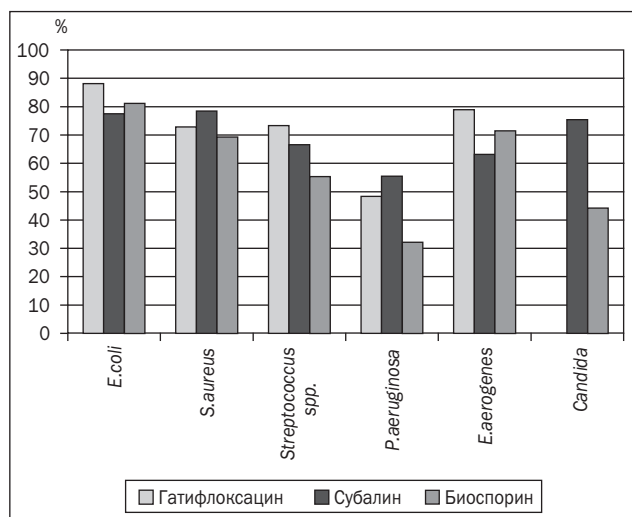


Рисунок 1. Сравнение чувствительности условно-патогенной микрофлоры к гатифлоксацину и СЭА

1. Субалин и Биоспорин демонстрируют высокую антагонистическую активность по отношению к представителям патогенной и условно-патогенной флоры.

2. По отношению к ряду возбудителей Субалин и Биоспорин демонстрируют сопоставимую и в ряде случаев более выраженную активность, чем традиционно применяемые антибактериальные и противогрибковые препараты.

3. Спектр антагонистической активности двух исследуемых препаратов отличается, что связано в первую очередь с различиями используемых штаммов микроорганизмов, а соответственно, и с оказываемыми этими препаратами эффектами. Выявленные отличия позволяют говорить о возможности дифференцированного использования Субалина и Биоспорина в терапии тех или иных заболеваний.

4. Разработанная нами методика произведения посевов для определения чувствительности различных представителей патогенной и условно-патогенной флоры к исследуемым препаратам имеет широкие перспективы внедрения в рутинную практику. Это дает возможность использовать вышеуказанные лекарственные средства в качестве альтернативы традиционным антибактериальным и

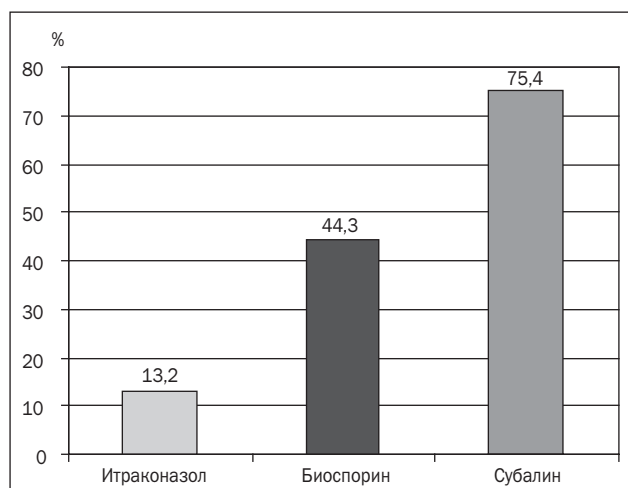


Рисунок 2. Чувствительность грибов рода *Candida*

Таблица 3. Сравнительная характеристика чувствительности микроорганизмов (%)

Вид микроорганизма	Наименование антибиотического вещества и СЭА						
	Цефтриаксон	Гатифлоксацин	Амоксициллин	Азитромицин	Итраконазол	Субалин	Биоспорин
<i>E.coli</i>	53,2	88,1	36,7	34,5	-	77,5	81,2
<i>S.aureus</i>	69,1	72,8	21,2	53,3	-	78,4	69,3
<i>Streptococcus spp.</i>	62,3	73,3	12,2	11,8	-	66,6	55,4
<i>P.aeruginosa</i>	44,1	48,3	14,2	8,2	-	55,5	32,2
<i>E.aerogenes</i>	42,2	78,9	22,4	28,7	-	63,2	71,5
<i>Candida</i>	-	-	-	-	13,2	75,4	44,3

противогрибковим препаратам або в схемах комбінованої терапії. Це особливо актуально, учитывая існуючі в даний момент високі показники резистентності до різних антибактеріальних і противогрибкових засобів, а також високий профіль безпеки Субаліна і Біоспорина.

## Список літератури

1. Проблеми водоснабження міста Одеси // *Якість води і здоров'я людини. Збірник наукових статей*. — 1999. — С. 203-204.
2. Похиленко В.Д., Перельгін В.В. Пробиотики на основі спорообразуючих бактерій і їх безпека // *Хімічна безпека біологічна безпека*. — 2007. — № 2-3. — С. 20-41.
3. Бакуліна Л.Ф., Перминова Н.Г., Тимофеев І.В. і др. Пробиотики на основі спорообразуючих мікроорганізмів роду *Bacillus* і їх використання в ветеринарії // *Біотехнологія*. — 2001. — № 2. — С. 4-56.
4. *Bergey's manual of systematic bacteriology* / Ed. P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, J.G. Holt. — Baltimore etc: Williams and Wilkins, 1984. — Vol. 2. — P. 1105-1139.
5. Reiling H.E., Zuber H. Energy production of *Bacillus stearothermophilus* by denitrification processes // *Experimentia*. — 1980. — Vol. 36, № 12. — P. 1457-1459.
6. Засьпка Л.І., Малярєнко Л.А., Псахіс І.Б., Іваниця В.А. Мікробіологічна оцінка якості води річки Дністр в теченні 1999–2001 рр. // *Вісник Одеського національного університету*. — 2001. — Т. 6, № 4. — С. 116-119.

7. Псахіс І. Б., Псахіс Б.І., Іваниця В.О. Деклараційний патент на корисну модель № 13081 «Спосіб доочищення питної води від нітритів». — 2004.

8. Бруснікіна Н.Ф., Залеских Н.В., Быкова С.А., Власенко М.А. Характеристика умовно-патогенних мікроорганізмів при острих і хронічних захворюваннях кишечника // *Республіканський збірник наукових праць* / Під ред. І.Н. Блохиної, К.Л. Соколовой. — Горький: Мед. ін-т, 1988. — С. 41-43.

9. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: Методичні вказівки Мв 9.9.5-143-2007 / МОЗ України. — К. — 2007. — 80 с.

10. Лезега К.Н., Чаплинський В.Я., Сорокулова І.Б., Якимова С.В., Грицаєнко А.М. Застосування Біоспорина при лікуванні кишечних інфекцій // *Сучасна педіатрія*. — 2013. — № 5 (53). — С. 172-174.

11. Сорокулова І.Б., Рыбалко С.Л., Руденко А.А., Берестова Т.Г., Лезега К.Н., Подгорський В.С., Куришук К.В. Субалін. Принципово новий підхід до лікування бактеріальних і вірусних інфекцій. — К., 2010.

12. Перцева Т.А., Бонцевич Р.А. Клинічне значення возбудителів інфекцій дихальних шляхів. Конспект лікаря клініциста і мікробіолога // *Клінічна імунологія. Аллергологія. Інфектологія*. — 2006. — № 4.

13. Ільїна Н.А., Карпеева Е.А., Гусєва І.Т. // *Сучасні наукові технології*. — 2008. — № 9. — С. 60-62.

Получено 19.04.14 ■

Псахіс І.Б., Маковська Т.Є.  
Державне підприємство «Науково-технічний інженерний центр проблем водочистки і водозбереження (НТЦ «Водообробка») Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського Національної академії наук України»  
Головний військово-медичний клінічний центр «ГВКГ»

### СУЧАСНІ МОЖЛИВОСТІ Й ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ПРОБІОТИКІВ ГРУПИ АНТАГОНІСТІВ, ЩО САМОЕЛІМІНУЮТЬСЯ, У ТЕРАПІЇ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

**Резюме.** У статті розглядається питання застосування пробіотиків у сучасній педіатрії. Приділена увага таким препаратам, як Біоспорин і Субалін, дослідженню культур мікроорганізмів, отриманих з різного виділюваного у 34 992 пацієнтів, і чутливості мікроорганізмів до цих препаратів.

**Ключові слова:** пробіотики, мікроорганізми, штам, чутливість.

Psakhis I.B., Makovskaya T.Ye.  
State Enterprise «Scientific-Technical Engineering Center of Water Purification and Saving Problems (STEC «Water Treatment») of Physico-Chemical Institute named after A.V. Bogatsky of National Academy of Sciences of Ukraine», Odessa  
Main Military Medical Clinical Centre «Main Military Clinical Hospital», Kyiv, Ukraine

### MODERN POSSIBILITIES AND PROSPECTS FOR THE USING PROBIOTICS FROM THE GROUP OF SELF-ELIMINATING ANTAGONISTS IN THE TREATMENT OF INFECTIOUS DISEASES

**Summary.** The article discusses the use of probiotics in modern pediatrics. Attention is given to drugs such as Biosporin and Subalin, research of microorganisms cultures obtained from various discharge in 34,992 patients, and the sensitivity of microorganisms to these drugs.

**Key words:** probiotics, microorganisms, strain, sensitivity.