



ругрического лечения и реабилитации) / В.И. Краснополянский, С. Н. Буянова, Н. А. Щукина. – М.: «МЕДпресс», 1998. – 233 с.

2. Абрамченко Д.Ф. Гнойно-септическая инфекция в акушерстве и гинекологии / В. В. Абрамченко, Д.Ф. Костюченко, Э. Д. Хаджиева. – СПб.: СпецЛит, 2005. – 459 с.

3. Цвелев Ю. В. Анаэробная инфекция в акушерско-гинекологической практике / Ю.В. Цвелев, В.И. Кочеровец, Е.Ф. Кира, В.П. Баскаков. – СПб.: Питер Пресс, 1995. – 320 с.

4. Гуртовой Б.Л. Применение антибиотиков в акушерстве и гинекологии / Б.Л. Гуртовой, В.И. Кулаков, С.Д. Воронаева. – М.: Триода-Х, 2004. – 176 с.

5. Функнер Е.В. Микробиологические и технологические аспекты разработки комплексного препарата бактериофагов :

автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук : спец. 03.00.07 «Микробиология» / Функнер Е.В. – Пермь, 2007. – 23 с.

6. Кабачный Г.И. Исследования в области применения оксигетилированных спиртов в технологии фармацевтических аэрозолей: дис. на соискание уч. степени канд. фарм. наук: спец. 15.00.01 «Технология лекарств и орг. фармацевтического дела» / Кабачный Г.И.. – Харьков, 1978. – 165 с.

7. Тихонов А. И. Технология лекарств: учеб. [для фармац. вузов и фак.] / А. И. Тихонов, Т. Г. Ярных. – Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2002. – 704 с.

8. Кабачный В. И. Физическая и коллоидная химия / В. И. Кабачный, Л. К. Осипенко, Л. Д. Грищан. – Х.: Издательство НФаУ, 2005. – 344 с.

Відомості про авторів: Єрещенко Оксана Антонівна – аспірант кафедри біотехнології НфаУ з відривом від виробництва (2007). Тел.служ. – 706 – 47 – 87, тел.дом. – 64-87-90

Стрельников Леонід Семенович – доктор фармацевтичних наук (1992), професор (1994), завідувач кафедри біотехнології НФаУ. Тел.служ. – 706 – 47 – 87, тел. дом. – 94 – 48 – 81.

Кабачний Геннадій Іванович - кандидат фармацевтичних наук (1980), доцент кафедри біотехнології (2008). Тел.служ. – 706 – 47 – 87.

Компанієць Євген Іванович – науковий співробітник ДП ДНЦЛЗ (м. Харків, вул. Астрономічна, б. 33), тел. служб. – 720-62-14.

УДК: 615.331: 615.454.2: 615.012.6

О.С. Калюжная, Л.С. Стрельников, О.П. Стрелец

ВИВЧЕННЯ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ ДО АНТИБІОТИКІВ ТА ПРОТИГРИБКОВИХ ПРЕПАРАТІВ

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: антибіотикорезистентність, біфідобактерії, лактобактерії, антибіотики, протигрибкові препарати.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, бифидобактерии, лактобактерии, антибиотики, противогрибковые препараты.

Key words: antibiotic resistance, bifidobacteria, lactobacteria, antibiotics, antifungal preparations.

Исследована антибиотикорезистентность 2 штаммов лактобактерий и 2 штаммов бифидобактерий, выделенных из препаратов-пробиотиков. Сравнение резистентности исследованных штаммов в ряду из 23 антибиотиков и противогрибковых препаратов позволило выявить значительные межштаммовые отличия. Наиболее устойчивыми к исследованным антибиотикам и противогрибковым препаратам были *L. plantarum* („Лактобактерин“) и *B. bifidum* („Бифидумбактерин“). Полученные данные позволяют предположить, что данные штаммы в будущем могут иметь практическое значение для конструирования вагинальных пробиотиков.

Antibiotic resistance of 2 strains of lactobacteria and 2 strains of bifidobacteria isolated from probiotic preparations has been investigated. The comparison of resistance of investigated strains in row of 23 antibiotics and antifungal preparations has allowed to reveal the significant differences. Representatives of *L. plantarum* („Lactobacterin“) and *B. bifidum* („Bifidumbacterin“) were most resistant to the studied antibiotics and antifungal preparations. The obtained results allow to assume that these strains may be useful for vaginal probiotic construction.

В останні роки багато уваги приділяється мікроекології уrogenітального тракту, що містить близько 10 % всієї мікрофлори здорової жінки [8]. Підвищений інтерес до даної мікроекосистеми в значній мірі пояснюється тим, що роль еволюційно сформованих популяцій піхвового біотопу полягає не тільки в підтримці колонізаційної резистентності сечостатевої системи, але й у формуванні мікроекологічного здоров'я немовлят, людської популяції у цілому [2, 4].

Як відомо, базовим компонентом доміантної фізіологічної вагінальної мікрофлори є аспорогенні грам-позитивні сахаролітичні анаероби, серед яких найбільш важливе місце займають біфідобактерії та лактобацили [5]. Але, за останні десятиліття зросло застосування анти-

бактеріальних препаратів, найчастіше масове та неадекватне, негативна дія яких на нормофлору людського організму в цілому й на вагінальну мікроекосистему зокрема є загальновідомим фактом [1, 3].

Дані про спектр антибіотикорезистентності бактерій родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium*, що є представниками мікроекосистем людини, дають можливість емпірично підбирати антибіотики, які не ушкоджували б нормофлору. Моніторинг антибіотикорезистентності лакто- та біфідобактерій дозволяє одержати відомості про рівень стійкості виробничих штамів до найпоширеніших антибіотиків з подальшим конструюванням на їхній основі бактерійних препаратів з можливістю спільного застосування з даними антибіотиками в процесі етіотропної



антибактеріальної терапії. Крім того, однією з основних міжнародних вимог до властивостей пробіотичних штамів під час тестування є їхня стійкість до антибіотиків [9].

З урахуванням вищезазначеного, **МЕТОЮ** даної роботи було вивчення стійкості лакто- та біфідобактерій до широкого спектру антибактеріальних препаратів з подальшим відбором штамів для створення нової високо-ефективної м'якої лікарської форми для профілактики й лікування вагінальних дисбіозів різної етіології.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У роботі використовували штамми лактобактерій *L. plantarum* та *L. acidophilus*, що були виділені з пробіотика „Лактобактерин” (ЗАТ „Біофарма”, м. Київ) та вагінальних супозиторіїв „Лактоваг” (ЗАТ „Лекхим - Харків”, м. Харків), відповідно, і штамми біфідобактерій, що були виділені з пробіотика „Біфідумбактерин” (ЗАТ „Біофарма”, м. Київ) та вагінальних супозиторіїв „Біфолак” (ЗАТ „Лекхим - Харків”, м. Харків), відповідно.

Чутливість штамів до антибіотиків вивчали диско-дифузійним методом (ДДМ) при використанні стандартних дисків, що були просякнуті антибіотиками, згідно з рекомендаціями методики NCCLS – Національного комітету по клінічних лабораторних стандартах США [10]. ДДМ заснований на здатності антибіотиків дифундувати з дисків у живильне середовище та пригноблювати ріст мікроорганізмів, що були посіяні на поверхні агару [6].

Для виділення та накопичення штамів лакто- та біфідобактерій використовували рідке середовище м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), напіврідке біфідум-середовище та щільне середовище Rogosa and Sharpe medium (MRS). Належність бактерій до родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* визначали за культуральними та морфологічними критеріями.

За рекомендаціями NCCLS антибіотикорезистентність мікроорганізмів доцільно вивчати на стандартизованому за всіма компонентами середовищі – агарі Мюллера-Хінтона (МХА).

На поверхню агару у чашках Петрі наносили 1 мл бактеріальної суспензії ($5 \cdot 10^8$ кліток в одному мл). Надлишок рідини видаляли піпеткою. Після підсушування чашок (не пізніше 15 хвилин після инокуляції) на поверхні середовища розміщували диски з антибіотиками. Чашки Петрі поміщали у термостат догори дном й інкубували при 37°C протягом 24 год. Після закінчення інкубації здійснювали облік й інтерпретацію результатів.

Резистентними вважали штамми, які не мали зон затримки росту, малочутливими – якщо зони затримки росту складають 6-10 мм, чутливими – 11-20 мм, високочутливими – більше 20 мм.

В складі 23 випробуваних препаратів були бета-лактамі, ароматичні, полієнові антибіотики, цефалоспорини, пеніциліни, аміноглікозиди, тетрацикліни, макроліди, глікопептиди, хінолони та імідазолні похідні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Порівняльне дослідження резистентності штамів лакто- та біфідобактерій до ряду з 23 антибіотиків та протигрибкових препаратів дозволило виявити значну міжштамову різницю.

За результатами досліджень антибіотикорезистентності

виробничих штамів пробіотичних культур дані, що наведені у таблиці 1, свідчать про те, що *L. plantarum* („Лактобактерин”) та *B. bifidum* („Біфідумбактерин”) вигідно відрізняються у порівнянні зі штамми, що були виділені з „Лактовагу” та „Біфолаку”. Так, *L. plantarum* („Лактобактерин”) виявився резистентним до полієнових антибіотиків, імідазолних похідних, цефокситину, цефалоспоринового ряду і був чутливим до глікопептидів, аміноглікозидів (крім канаміцину), макролідів, ароматичних антибіотиків, а також цефамандолу й цефеперазону цефалоспоринового ряду, бензилпеніциліну і високо чутливим до 5 антибіотиків. У той же час *L. acidophilus* („Лактоваг”) був резистентним лише до протигрибкових препаратів, малочутливим до ністатину й цефокситину, чутливим до 7 антибіотиків цефалоспоринового та пеніцилінового рядів, аміноглікозидів, хінолонів, глікопептидів, високочутливим до 9 інших антибіотиків.

Мікроорганізми штаму *B. bifidum* („Біфідумбактерин”) резистентні лише до протигрибкових препаратів, у той час як виділені з „Біфолаку” не мають антибіотикорезистентності та є високочутливими до дії більшості з досліджуваних антибіотиків. *B. bifidum* („Біфідумбактерин”) нестійкий до дії 3 антибіотиків цефалоспоринового ряду, карбапенемів, чутливий до 11 антибіотиків аміноглікозидів, хінолонів, макролідів, ароматичних і полієнових антибіотиків, високочутливий лише до амоксициліну, ампіциліну й глікопептидів.

Крім того, аналізуючи вище наведені результати, слід зазначити, що три з чотирьох вивчених штамів лакто- та біфідобактерій резистентні до імідазолних похідних, які спричиняють виражений дисбактеріоз [7]. Найбільш сильну інгібуючу дію на лакто- та біфідобактерії мають антибіотики ароматичного, пеніцилінового, макролідного та хінолонового рядів, тому компенсаторна пробіотикотерапія суворо обов'язкова після їх прийому.

ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень відзначено, що штамми, виділені з пробіотиків „Лактобактерин” та „Біфідумбактерин”, є більш стійкими до дії більшості антимікробних та протигрибкових препаратів у порівнянні зі штамми, що були виділені з „Лактовагу” та „Біфолаку”. Вони, на відміну від перших двох, виявились високочутливими до основної маси перелічених препаратів. Крім того, антибіотики та протигрибкові препарати, до яких досліджувані штамми бактерій резистентні або малочутливі, заслуговують подальшого вивчення з погляду доцільності їхнього спільного використання з пробіотичними препаратами при етіотропній терапії. Не виключена можливість того, що спільне застосування даних препаратів буде сприяти більш успішному лікуванню захворювань, а також профілактиці розвитку дисбактеріозів, обумовлених антибіотикотерапією і прийомом протигрибкових препаратів.

Таким чином дані досліджень виявили перспективність роботи з пробіотичними штамми *L. plantarum* („Лактобактерин”) та *B. bifidum* („Біфідумбактерин”) для створення м'якої лікарської форми для профілактики та лікування вагінальних дисбіозів жінки.

Таблиця 1

Чутливість штамів лакто- та біфідобактерій до антибіотиків

Антибіотики	Діаметр зон затримки росту культур, мм			
	L. plantarum („Лактобактерин“)	L. acidophilus („Лактовар“)	B. bifidum („Біфідумбактерин“)	Bifidobacterium („Біфолок“)
Цефалоспорины				
Цефатоксим	21±0,1	13±0,3	12±0,1	36±0,5
Цефамандол	16±0,1	20±0,1	-	35±0,1
Цефалеразон	11±0,4	12±0,2	-	32±0,4
Цефокситин	+	8±0,2	10±0,1	34±0,5
Карбапенеми				
Імпінем	26±0,2	24±0,4	-	45±0,1
Пеніциліни				
Бензилпеніцилін	10±0,4	13±0,2	11±0,4	38±0,4
Ампіцилін	22±0,1	27±0,1	25±0,1	40±0,1
Амоксицилін	25±0,5	29±0,1	32±0,2	40±0,3
Глікопептиди				
Ванкоміцин	16±0,2	21±0,1	22±0,3	11±0,4
Бацитрацин	16±0,5	22±0,3	20±0,1	20±0,6
Аміноглікозиди				
Канаміцин	7±0,3	18±0,2	11±0,1	-
Лінкоміцин	20±0,1	24±0,1	14±0,2	11±0,3
Кліндаміцин	20±0,2	21±0,2	12±0,1	21±0,5
Макроліди				
Ерїтроміцин	20±0,1	22±0,2	17±0,4	34±0,2
Олеандоміцин	16±0,1	15±0,5	14±0,2	21±0,2
Хінолони				
Тетрациклін	24±0,4	20±0,4	19±0,2	28±0,2
Ароматичні антибіотики				
Хлорамфенікол	20±0,2	30±0,2	18±0,5	30±0,2
Полієнові антибіотики				
Ністатин	+	7±0,3	+	8±0,2
Амфотерицин	8±0,1	12±0,2	10±0,4	10±0,1
Імідазолні похідні				
Кетоконазол	+	+	+	10±0,1
Флуконазол	+	+	+	10±0,3
Клотримазол	+	+	+	-
Метронідазол	+	+	+	-

Примітка: «+» – штам мікроорганізму стійкий до впливу антибіотика (немає затримки росту досліджуваного штаму); «-» – штам мікроорганізму нестійкий до впливу антибіотика (немає росту досліджуваного штаму); «n» – зона затримки росту досліджуваного штаму (мм).

Відомості про авторів: Калюжная Ольга Сергіївна – аспірант кафедри біотехнології НФаУ з відривом від виробництва (2006). Стрельников Леонід Семенович – доктор фармацевтичних наук (1992), професор (1994), завідувач кафедри біотехнології НФаУ. Стрілець Оксана Петрівна – кандидат фармацевтичних наук (2001), доцент кафедри біотехнології (2004).
Адреса для листування: 61002, Україна, м.Харків, вул. Мельникова, 12; телефон: 706 – 47 – 87.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барбоса Т. М. Использование антибиотиков и резистентность: что скрывается в тени? / Т. М. Барбоса, С. Б. Леви // Клиническая антибиотикотерапия. – 2001. – № 3 (11). – С. 30–32.
2. Бекетова Г. Нові підходи до лікування порушень мікробіоценозу травної системи у дітей / Г. Бекетова // Ліки України. – 2002. – № 2. – С. 55–56.
3. Березняков И. Г. Современные принципы разумного применения антибиотиков / И. Г. Березняков // Лікування та діагностика. – 2004. – №1. – С. 11–22.
4. Вдовиченко Ю. Л. Вплив мікробіоценозу піхви кишечника вагітних жінок на частоту розвитку післяпологової неонатальної інфекції / Ю. Л. Вдовиченко, Н. І. Генік, Д. Р. Шадун та ін. // Перинатологія і педіатрія. – 2001. – № 2. – С. 18–20.
5. Венцовский Б. М. Микроэкологические аспекты репродуктивного здоровья женщины и современные подходы к его поддержанию / Б. М. Венцовский, В. А. Товстановская, Д. С. Янковский, Г. С. Дымент // Здоровье женщины. – 2002. – № 3 (11). – С. 86–91.
6. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках / Николай Сергеевич Егоров. – М. : Высшая школа, 1986. – 488 с.
7. Склад Т. В. Частота выделения и спектр чувствительности к антифунгальным препаратам возбудителей вульвовагинального кандидоза / Т. В. Склад, А. В. Крысенко, Е. А. Сирокваша, А. И. Винников // Мікробіологічний журнал. – 2007. – № 3. – С. 57–62.
8. Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления / Дмитрий Станиславович Янковский. – К. : Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.
9. Guidelines for the evaluation of probiotics in food/ Report of Joint FAO / WHO Working Group on Drafting Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada. April 30 – May 1, 2002.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards for Antimicrobial susceptibility testing; eleventh informational supplement. -2001.-Vol 21 (1).