



А.В. Березняков, О.П. Стрілець, О.С. Калюжная, Л.С. Стрельников

## Вивчення впливу сорбентів на пробіотичні мікроорганізми

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:**

ентеросорбент, пробіотики, захворювання шлунково-кишкового тракту.

**Ключевые слова:**

ентеросорбент, пробиотики, заболевания желудочно-кишечного тракта.

**Key words:** enterosorbent, probiotics, digestive diseases.

Мікробіологічними методами вивчено вплив ентросорбенту на життєздатність і антагоністичну активність клітин пробіотичної культури лактобактерій. Отримані дані дають змогу стверджувати перспективність створення комплексного іммобілізованого пробіотичного препарату.

Микробиологическими методами изучено влияние энтеросорбента на жизнеспособность и антагонистическую активность клеток пробиотической культуры лактобактерий. Полученные данные позволяют утверждать о перспективности создания иммобилизованного пробиотического препарата.

It was investigated the influence of enterosorbent on the viability of cells and the antagonistic activity of probiotic lactic acid bacteria culture by microbiological methods. These data suggested about the prospects of creating immobilized probiotic preparation.

На основі дослідження представників мікробіоценозів розроблено численний арсенал пробіотиків, більшість з яких, проте, є неефективними [7,8]. Одним із можливих методів подолання проблеми підвищення пробіотичної активності існуючих засобів для профілактики й лікування захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) є створення пробіотиків в іммобілізованій формі. Впровадження у клінічну практику сумісного застосування пробіотичних культур і високоактивних сорбентів потребує детальнішого вивчення.

**Мета роботи**

Вивчення впливу сорбенту на властивості пробіотичної культури, що дозволять оцінити можливість їхнього сумісного використання в одній лікарській формі.

**Матеріали і методи дослідження**

Об'єктом досліджень була промислова пробіотична культура лактобактерій, що складає основу вітчизняного препарату «Лактобактерин сухий» з титром щонайменше 2 млрд живих лактобацил в одній дозі. Посівна доза лактобактерій складала  $1 \cdot 10^7$  КУО.

Як ентросорбент у дослідженнях використовували ксерогель, що має багато позитивних рис: не має пошкоджуючого впливу на слизову оболонку шлунка й кишечника; не проникає у клітини епітелію слизових; швидко виводиться з організму людини; ксерогель є селективним сорбентом, тобто речовини, що мають молекулярну масу менше 70 (іони металів, мінеральні солі), та високомолекулярні речовини (загальні білки, імуноглобуліни) сорбції не підлягають, а шкідливі речовини з молекулярною масою від 70 до 1000 (сечовина, білірубін, холестерин тощо) сорбент елімінує ефективно [1]. Ксерогель додавали у кількостях 0,1; 0,5; і 1 г.

Для вивчення впливу сорбенту на пробіотичну культуру мікроорганізми культивували протягом 48 годин за температури  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) з додаванням ксерогелю. Дослідження проводили двома серіями. У першому випадку ксерогель додавали

разом з пробіотичною культурою до середовища. У другому – змішували з пробіотичною культурою, суміш зберігали 14 діб, після чого додавали до середовища. Після культивування визначали кількість живих клітин та антагоністичну активність і проводили порівняння з контролем, в якості якого використовували культуру лактобактерій, вирощену за тих самих умов, але без додавання сорбенту.

Для визначення кількості живих клітин мікроорганізмів при культивуванні з сорбентом використовували метод серійних розведень з наступним висіванням на густе живильне середовище [2].

Антагоністичну активність вивчали за модифікованою методикою А.А. Ленцнера [6] з використанням референс-штамів: *Escherichia coli* 25922, *Staphylococcus aureus* 25923, *Bacillus subtilis* 6633, *Proteus vulgaris* 6896, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Candida albicans* 885-653.

Усі досліді проводили у п'яти повтореннях. Статистичну обробку здійснювали традиційними методами варіаційної статистики. Середні арифметичні значення та їх довірчі інтервали визначали для рівня вірогідності 95%.

**Результати та їх обговорення**

Існують дані про антибактеріальну активність кремнійорганічних сорбентів, до яких належить ксерогель [3], а з урахуванням використання живих клітин лактобактерій, першим етапом при створенні лікарської форми на основі цих компонентів є доказ можливості їхнього сумісного використання в одній лікарській формі.

На рис. 1 наведено результати дослідження щодо вивчення життєздатності клітин лактобактерій при сумісному культивуванні з ксерогелем.

Результати дослідження показали незначну зміну кількості клітин лактобактерій при додаванні ксерогелю від 0,1 г до 1 г як при одночасному додаванні з лактобактеріями у середовище (випадок 1), так і після

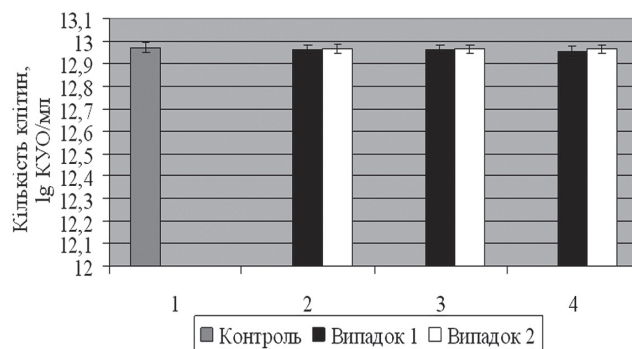


Рис. 1. Залежність життєздатності лактобактерій від кількості ентеросорбенту.

Примітки: 1 – кількість ксерогелю 0 г; 2 – кількість ксерогелю 0,1 г; 3 – кількість ксерогелю – 0,5 г; 4 – кількість ксерогелю 1 г.

зберігання суміші ксерогелю + лактобактерин з подальшим додаванням у середовище (випадок 2), у порівнянні з контролем. Так, після культивування кількість клітин у контролі дорівнює  $9,35 \cdot 10^{12}$  КУО/мл ( $\lg = 12,971$ ), при додаванні 1 г ксерогелю у першому випадку –  $9,18 \cdot 10^{12}$  КУО/мл ( $\lg = 12,963$ ), у другому випадку –  $9,20 \cdot 10^{12}$  КУО/мл ( $\lg = 12,964$ ). Представлені результати свідчать про можливість використання в одній лікарській формі ксерогелю і живих клітин лактобактерій.

Позитивний ефект пробіотичних культур пов'язаний з проявом антагоністичних властивостей лактобактерій відносно широкого спектра грам-позитивних, грам-негативних бактерій і грибів [4,5]. Виходячи з того, що антагоністична активність є одним з основних критеріїв відбору пробіотичних штамів, наступний етап досліджень – визначення впливу ентеросорбенту на прояв антагоністичних властивостей лактобактерій, результати якого наведено в табл. 1.

#### Література

1. Бондарев Е.В. Применение энтеросорбентов в медицинской практике / Е.В. Бондарев, С.Ю. Штрыгань, С.Б. Дырявый // Провизор. – 2008. – №13. – С. 37–39.
2. Волянський Ю.Л. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод. рек./Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов та ін. – К., 2004. – 39 с.
3. Дарагмех М.М. Антибактериальная, сорбционная и противовоспалительная активность комбинаций модифицированных декасаном сорбентов / М.М. Дарагмех // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2007. – Т. 6, №1. – С. 22–25.
4. Калужная О.С. До питання розробки лікарських засобів із нормобіотиками. Вивчення антагоністичної активності лактобактерій / О.С. Калужная, Л.С. Стрельников, О.П. Стрілець // Фармаком. – 2008. – №1. – С. 46–49.
5. Калужная О.С. Изучение антагонистической активности лактобактерий / О.С. Калужная, Л.С. Стрельников, О.П. Стрілець // II Междунар. науч. конф. молодых ученых-медиков: сб. тр., г. Курск, 21–22 февр. 2008 г. – Курск, 2008. – С. 264–266.
6. Ленцнер А.А. Лактобациллы микрофлоры человека: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: спец. 03.00.07 «Микробиология» / А.А. Ленцнер – Тарту, 1973. – 69 с.
7. Шендеров Б.А. Антимикробные препараты и нормальная микрофлора. Проблемы и возможные пути их решения / Б.А. Шендеров // Антибиотики и химиотерапия. – 1988. – №12. – С. 921–926.
8. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления / Д.С. Янковский. – К.: Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.

#### Відомості про авторів:

Березняков А.В., старший лаборант каф. біотехнології НФаУ.  
Стрілець О.П., к. фарм. н., доцент каф. біотехнології НФаУ.  
Калужная О.С., асистент каф. біотехнології НФаУ.  
Стрельников Л.С., д. фарм. н., професор, зав. каф. біотехнології НФаУ.

#### Адреса для листування:

Березняков Андрій Володимирович. 61002, Україна, м. Харків, вул. Мельникова, 12. Тел.: (057) 706 47 87.

Таблиця 1  
Антагоністична активність лактобактерій після культивування з ксерогелем, визначена методом перпендикулярних штрихів

Тест-штам	Контроль	Випадок 1*	Випадок 2**
	Зони затримки росту тест-штамів, (M±m) мм		
E. coli ATCC 25922	21,7±0,5	20,9±0,6	20,5±0,8
S. aureus ATCC 25923	25,6±0,6	25±0,3	24,6±0,6
B. subtilis ATCC 6633	17,8±0,6	18,1±0,4	17,7±0,5
Pr. vulgaris ATCC 6896	16,6±0,1	16,2±0,5	16,7±0,3
Ps. aeruginosa ATCC 27853	20,7±0,6	20,4±0,4	20,5±0,3
C. albicans ATCC 885-653	36,4±0,5	36,1±0,4	35,8 ±0,7

Примітки: \* – 1 г ксерогелю додавали у середовище одночасно із лактобактеріями; \*\* – суміш 1 г ксерогелю з лактобактеріями додавали у середовище після зберігання 14 діб; n = 5; P = 95 %; (M±m) – довірчий інтервал.

За даними експерименту, антагоністичні властивості лактобактерій відносно тест-штамів, що є представниками різних видів грам-позитивних і грам-негативних мікроорганізмів і грибів, досить високі як у контролі, так і при додаванні ксерогелю. Порівняння результатів показало, що різниця між зонами затримки росту відповідних тест-штамів у контролі й випадках 1 і 2 статистично не значущі.

#### Висновки

Проведені дослідження щодо визначення життєздатності й антагоністичної активності лактобактерій при сумісному культивуванні з ксерогелем доводять можливість створення лікарської форми з пробіотичною культурою та ентеросорбентом, яка є перспективною для профілактики і лікування захворювань ШКТ.