

УДК 616.921.5-085.24

Н.І. Філімонова, О.М. Дика, В.О. Місюрьова, Мухамед Мофтах Єлааті
Національний фармацевтичний університет

РІВЕНЬ АНТИМІКРОБНОЇ ЗДАТНОСТІ ПРОБІОТИКІВ ЗАЛЕЖНО ВІД КИСЛОТНО-ЛУЖНОЇ РІВНОВАГИ

Пробіотикотерапія є одним з перспективних напрямків корекції дисбактеріозів ШКТ, основу якої складає колонізаційна резистентність та виявлення антагоністичної дії.

Вивчений вплив змін кислотно-лужного середовища на рівень активності пробіотичних препаратів. Встановлено, що зсув рН до 4,0-5,0 супроводжується спрямованим впливом на бактеріоциногенну здатність досліджуваних пробіотиків.

Результати вивчення ефективності комплексної схеми лікування експериментального дисбактеріозу кишечника обґрунтовує доцільність одночасного застосування пробіотика з екстрактом вільхи клейкої.

Ключові слова: пробіотики; кислотно-лужна рівновага; пробіотикотерапія; дисбактеріоз; комплексна схема терапії

ВСТУП

На теперішній час пробіотикотерапія розглядається як один з перспективних напрямків корекції дисбактеріозів, у т.ч. кишечника.

За ретроспективним аналізом обґрунтування перспективності застосування біопрепаратів зі складу автохтонних мікробіоценозів в якості засобів відновлюваної коригувальної терапії дисбактеріозів пов'язане з ім'ям І.І. Мечникова та зводиться до періоду встановлення антагоністичних взаємовідносин у світі мікробів [5, 13].

Пробіотики — це живі мікроорганізми та речовини мікробного походження, які позитивно впливають при природному способі введення на фізіологічні, біохімічні та імунні реакції організму господаря через стабілізацію та оптимізацію функції його нормальної мікрофлори. Живі мікроорганізми, що входять до складу пробіотичних препаратів, за рахунок своїх метаболітів здатні змінювати рН середовища, а антибіотикоподобні речовини (бактеріоцини) пригнічують ріст і розвиток патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів [1, 2, 7, 9].

Враховуючи доцільність використання пробіотичних препаратів, слід перш за все звернути увагу на те, що основу активності цих препаратів складає забезпечення колонізаційної резистентності та виявлення антагоністичної дії за рахунок продукції органічних кислот (молочної та оцтової), інгібіторних протеїнів, у т.ч. термостабільних та термостабільних високо- і низько-

молекулярних антибактеріальних субстанцій, антибіотиків та бактеріоцинів [2, 3, 6, 8]. Здатність колонізувати слизову складається з адгезії мікроорганізмів до епітеліальних клітин кишечника, конкуренції за рецептори зв'язування і блокади адгезії та колонізації слизових патогенними і умовно-патогенними мікробами за участю факторів як імуноглобулінової природи, так і неспецифічних факторів захисту організму господаря [7, 10, 11, 12]. Згідно з узагальненими мікробіологічними відмінностями доведено, що типові представники індигенної (автохтонної) мікрофлори у притаманних фізіологічних потенціях виявляють еволюційно сформовану схильність до кислотних показників рН вмісту у відповідних топонемах природної персистенції.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В якості маркерних представників пробіотиків відповідно використані біфідумбактерин, колибактерин, лактобактерин та біфікол. Одночасно в якості тестованої мікробіологічної моделі використаний колекційний набір референтних штамів, включаючи: *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 25853.

Вплив відповідних показників рН бульйону Мюллера-Хінтона (БМХ) на здатність пробіотиків до продукування бактеріоцинів оцінений за результатами визначення антимікробних властивостей зразків бульйонних фільтратів.

В якості бактеріоцинів використані стерильні фільтрати бульйону Мюллера-Хінтона, отримані в результаті 7-добового культивування відповідних пробіотиків. Концентраційне дозу-

© Н.І. Філімонова, О.М. Дика, В.О. Місюрьова,
 Мухамед Мофтах Єлааті, 2011

вання бактеріоцинів визначено на основі сухого залишку.

Статистичне узагальнення отриманих результатів здійснено за програмою Statistica 6.0 [4].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Враховуючи те, що клініко-патогенетичний перебіг гастритів супроводжується зсувами кислотно-лужної рівноваги, видається обґрунтованою імітацією умов, притаманних цим станам *in vitro*. З цієї метою для культивування пробіотиків використані зразки БМХ з відповідними параметрами рН від 4,0 до 9,0, а результати враховані шляхом оцінки антимікробної активності бульйонних фільтратів, що вміщують екстрацелярно продуковані досліджуваними пробіотиками бактеріоцини.

Аналіз результатів проведених досліджень свідчить, що культивування обраних пробіотиків у середовищах з відповідними показниками рН супроводжується спрямованим впливом на бактеріоциногенну здатність досліджуваних пробіотичних препаратів.

Згідно з отриманими даними, які представлені у табл. 1, доведено, що при певних показниках рН БМХ досліджені пробіотики виявляють антимікробну активність по відношенню до піогенноутворюючих грампозитивних і грамнегативних тест-мікробів. Універсально до обраних пробіотиків встановлено, що оптимальними по відношенню до потенціювання бактеріоциногенної функції виявились зразки БМХ з рН 4,0–5,0. За цих умов спрямованого культивування усереднена антистафілококова активність бактеріоцинів складала 32,0 мкг/мл, а протисиньогнійна — відповідно 56,2 мкг/мл. При збільшенні рН у зразках БМХ до 6,0 простежене зменшення протистафілококової активності фільтратів у 2,2 рази, а протисиньогнійної — у 1,4 рази. У зразках БМХ з рН 7,0 простежується зниження антимікробної активності фільтратів становило 3,2 та 2,2 рази; при збільшенні рН до 8,0

мінусові зсуви у виявах антимікробних властивостей бульйонних фільтратів відповідно знижувались у 4,8 та 3,3 рази. У свою чергу, лужне збільшення рН у зразках БМХ до 9,0 практично нівелювало природну здатність відповідно культивованих пробіотиків до відтворення бактеріоциногенної функції (табл. 1.).

З метою оптимального наближення до клінічних форм дисбактеріозів ШКТ експеримент відтворений в умовах додаткового інфекційного обтяження піддослідних тварин шляхом застосування стандартизованої завісі добових агарових культур референтних штамів *S.aureus* і *P. aeruginosa*.

В експерименті було задіяно 10 піддослідних гвінейських свинок, що відповідно були поділені на 2 групи по 5 тварин у кожній. Посхемне лікування піддослідних тварин здійснено шляхом щодобового однократного перорального введення композиційної суміші біфідумбактерину з екстрактом вільхи клейкої та біфідумбактерину з соком подорожника в загальному об'ємі 1,0 мл.

В умовах здійсненого перорального суперінфікування нелікованих тварин, хворих на первинно підтверджений дисбактеріоз ШКТ, простежений 100% за летальністю септикопемічний перебіг з патоморфологічним домінуванням прободних виразкових колітів і перитонітів.

Аналіз результатів проведених досліджень свідчить (див. табл. 2), що у групі тварин, лікованих композиційною сумішшю біфідумбактерину з екстрактом вільхи клейкої, зникли 43–57% клінічних ознак здійсненого суперінфікування, усереднені терміни видужування у терміни 4–5 добового лікування, попередження ознак рецидивного перебігу у патогенезі інфекційно обтяжених дисбактеріозів ШКТ у гвінейських свинок.

Таким чином, отримані результати показали, що прогнозовані лікувально-профілактичні ефекти від пробіотикотерапії дисбактеріозів кишечника принципово залежать від комбіновано-

Таблиця 1

СПРЯМОВАНИЙ ВПЛИВ РН ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ЗДАТНІСТЬ ПРОБІОТИКІВ ДО ПРОДУКЦІЇ БАКТЕРІОЦИНІВ

рН зразка БМХ	Антимікробна активність пробіотиків, мкг/мл							
	біфідумбактерин		біфікол		колібактерин		лактобактерин	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
4,0	32,6±3,2	53,5±6,7	25,7±3,4	43,2±4,8	27,3±2,8	60,6±7,8	34,4±5,2	56,4±6,6
5,0	37,2±4,5	57,3±4,8	28,0±2,6	47,6±5,6	32,8±3,4	67,2±5,4	38,0±6,7	64,7±5,8
6,0	65,5±5,8	93,7±7,5	76,3±6,4	92,5±7,7	68,4±5,5	107,4±6,7	75,6±4,8	110,8±8,4
7,0	93,7±8,4	110,5±10,4	106,7±8,5	127,5±11,4	98,5±7,3	123,5±9,4	108,3±9,5	134,5±11,6
8,0	146,7±12,6	175,7±12,6	164,5±12,3	210,8±14,3	165,4±9,7	178,6±11,7	146,5±11,7	185,7±12,4
9,0	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500

**СПІВСТАВЛЕНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПОЗИЦІЙНИХ СХЕМ
ЛІКУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБАКТЕРІОЗУ ШКТ**

Показники	Композиційні схеми лікування			
	пробіотик+сік подорожника		пробіотик+альтан	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Кількість гвінейських свинок	5		5	
Клінічні показники до/після лікування:				
- адинамія	5	0	5	0
- анорексія	5	0	5	0
- здуття ШКТ	5	1	5	0
- розлади ШКТ	5	1	5	0
- терміни одужування (діб)	11-13		4-5	
- рецидивний перебіг	3 (60%)		1 (20%)	
Відновлення структури мікробіоценозів ШКТ	++++/++		++++/+	

Примітка:++++ — кількісне домінування КУО біогенних коків,
 ++ — поодинокі сполучення КУО 2-3 видів транзиторних мікроорганізмів;
 + — поодинокі КУО одного з видів транзиторних мікроорганізмів.

го суміщення пробіотиків з фармакологічними засобами, здатними до відновлення фізіологічно значущих параметрів кислотно-лужної рівноваги вмісту кишечника.

ВИСНОВКИ

1. Культивування пробіотиків у середовищах з показниками рН 4,0-5,0 супроводжується спрямованим впливом на бактеріоциногенну здатність досліджуваних пробіотичних препаратів.
2. Серед препаратів, здатних корегувати кислотно-лужну рівновагу, особливу увагу привертає екстракт вільхи клейкої (препарат «Альтан»), що поєднує противиразкову, протизапальну та антимікробну дію. Останнє дозволяє рекомендувати його у комплексному застосуванні для профілактики та лікування дисбактеріозу кишечника.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Бережной В.В. Пробиотики в комплексной терапии детей с атопическим дерматитом / В.В. Бережной, С.А. Крамарев, Д.С. Янковский, Г.С. Дыменг // Здоровье женщины. — 2003. — №1(13). — С. 95-97.
2. Бондаренко В.М. Пробиотики и механизмы их лечебного действия / В.М. Бондаренко, Р.П. Чупринина, Ж.И. Аладышева, Т.В. Мацулевич // Эксперим. и клин. гастроэнтерол. — 2004. — №3. — С. 83-87.

3. Бондаренко В.М., Грачева Н.М. Пробиотики, пребиотики и синбиотики в терапии и профилактики кишечных дисбактериозов // Фарма-тека. — 2003. — №7 — С. 56-63.
4. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. — 2-е изд. — С.Пб.: Питер, 2003. — 688 с.
5. Запруднов А.М., Мазанкова Л.Н. Микробная флора кишечника и пробиотики: [метод. пособие]. — М., 2001. — 32 с.
6. Лыкова Е.А. Характеристика и алгоритм применения пробиотиков. — Медик-21 век, 2005.
7. Салливан А., Норд К. Место пробиотиков в терапии инфекций желудочно-кишечного тракта у человека // Клин. микробиол. и антимикробная химиотерапия. — 2003. — Т. 5, №3. — С. 275-284.
8. Collins M.D. // Am. J. Clin. Nutr. — 1999. — Vol. 69, (suppl.) — 1052S-7S.
9. Cunningham-Rundles S. // Am. J. Gastroenterol. — 2000. — Vol. 95, №1. — P. S22-25.
10. Lewis S.J., Burmeister S.O. // J. Clin. Nutr. — 2005. — № 9(6). — P. 776-780.
11. Lin M.Y., Chen T.W. // J. Food Drug Anal. — 2000. — №8. — P. 97-102.
12. Naidu A.S., Bidlack W.R., Clemens R.A. // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. — 1999. — №39(1). — P. 13-126.
13. Senna V., Sawada K., Mitsuoka T. // Microbiol. Immunol. — 1984. — №28. — P. 975-86.

УДК 616.921.5-085.24

Н.И. Филимонова, Е.М. Дикая, В.А. Мисюрева, Мухаммед Мофтах Елаати
УРОВЕНЬ АНТИМИКРОБНОЙ СПОСОБНОСТИ ПРОБИОТИКОВ В
ЗАВИСИМОСТИ ОТ КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОГО БАЛАНСА

Пробиотикотерапия является одним из перспективных направлений коррекции дисбактериозов ЖКТ, основу которой составляет колонизационная резистентность и изучение антагонистического действия.

Изучено влияние изменений кислотно-щелочной среды на уровень активности пробиотических препаратов. Установлено, что сдвиг pH до 4,0-5,0 сопровождается направленным воздействием на бактериоциногенную способность изучаемых пробиотиков.

Результаты изучения эффективности комплексной схемы лечения экспериментального дисбактериоза кишечника обосновывает целесообразность одновременного применения пробиотика с экстрактом ольхи клейкой.

Ключевые слова: пробиотики; кислотно-щелочное равновесие; пробиотикотерапия; дисбактериоз; комплексная схема терапии

UDC 616.921.5-085.24

N.I. Filimonova, H.M. Dikaya, V.A. Misyureva, Mohammed Moftah Elaati
LEVEL OF ANTIMICROBIAL ABILITY OF PROBIOTICS
DEPENDEND ON ACID-ALKALINE BALANCE

Probioticotherapy is one of the promising directions of correction dysbacteriosis of gastrointestinal tract, which was based on colonization resistance and the study of the antagonistic action.

The effect of changes in the acid-alkaline environment on the level of activity of probiotic preparations. It is established that the shift to pH 4.0-5.0 is accompanied by a directional effect on the bacteriocynogenic ability of studied probiotics.

The results of studying the effectiveness of comprehensive regimen of experimental intestinal dysbiosis proves the feasibility of simultaneous application of probiotics with an extract of alder adhesive.

Key words: probiotics; acid-alkaline balance; probioticotherapy; dysbacteriosis; complex scheme of therapy

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Кафедра мікробіології
Тел. (057) 706-30-67

Надійшла до редакції:
25.10.2011 р.