

УДК 579.61

О. В. Крисенко, Т. В. Скляр, А. І. Вінніков, А. В. Сліпецька, С. С. Куденко

Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара

МІКРОБІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПРОБІОТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Розглянуто основні етапи виникнення та розвитку пробіотичних препаратів, загальну характеристику сучасних пробіотиків, сфери їх використання в медицині та ветеринарії. Наведено характеристику мікроорганізмів (біфідобактерій, лактобактерій, бактерій роду *Bacillus*), які використовуються у виробництві пробіотиків, основні вимоги, яким повинні відповідати ці мікроорганізми, а також перспективи розвитку застосування пробіотиків.

А. В. Крысенко, Т. В. Скляр, А. И. Винников, А. В. Слипецкая, С. С. Куденко

Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Рассмотрены основные этапы возникновения и развития пробиотических препаратов, общая характеристика современных пробиотиков, сферы их использования в медицине и ветеринарии. Дана характеристика микроорганизмов (бифидобактерий, лактобактерий, бактерий рода *Bacillus*), используемых в производстве пробиотиков, основные требования, которым должны отвечать эти микроорганизмы, а также перспективы развития применения пробиотиков.

A. V. Krysenko, T. V. Sklyar, A. I. Vinnikov, A. V. Slipetska, S. S. Kudenko

Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University

MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF PROBIOTIC PREPARATIONS

The main stages of the beginning and development of probiotic preparations, the general characteristics of modern probiotics, the scope of their use in medicine and veterinary are presented. The characteristics of microorganisms (bifidus bacteria, lactobacteria and *Bacillus* bacteria) used in the production of probiotics, the basic requirements that should be met by these organisms, as well as prospects for the development of probiotics are shown.

Вступ

Нині відзначається постійний ріст захворювань, пов'язаних із порушенням біологічної рівноваги між макроорганізмом, тобто людиною, та різноманітними популяціями мікробної флори його окремих органів і систем, що склалася в процесі еволюції [13; 15]. Загальновизнаною вважається участь нормальної мікрофлори людини у підтримці гомеостазу організму, формуванні механізмів імунітету, метаболізму. Важлива проблема сучасної медицини – дисбіотичні порушення нормальної мікрофлори людини. Вважається, що саме застосування пробіотиків – найперспективніший та найефективніший підходи до лікування дисбіозів.

Різними дослідженнями показано значну роль для здоров'я людини представників корисної мікрофлори кишечника, що входять до складу пробіотиків, біологічно

активних добавок і продуктів функціонального харчування. Використання живих культур мікроорганізмів – представників нормальної мікрофлори у складі пробіотичних препаратів для профілактики та лікування дисбактеріозів різної етіології є новим і перспективним напрямком у медицині [16; 17].

У зв'язку зі зростаючими потребами біотехнології, змінами екологічного та радіаційного фонів, широким застосуванням у практиці хімічних, цитостатичних і гормональних засобів виникає необхідність пошуку нових, ефективних, безпечних штамів мікроорганізмів, на базі яких можуть бути створені нові пробіотичні препарати.

Мета даного огляду – проаналізувати літературні дані стосовно пробіотичних препаратів та мікроорганізмів, які входять до їх складу, та визначити перспективи застосування пробіотиків.

Загальна характеристика пробіотичних препаратів

Препарати, що містять нормальну мікрофлору, з лікувальною метою використовувалися з найдавніших часів. Мечников уперше описав позитивний ефект, що спричиняється молочнокислими бактеріями на організм людини [12].

Протягом ряду років існувало декілька трактувань терміну «пробіотик». Уперше використали цей термін для позначення метаболітів, що продукують одні мікроорганізми для стимуляції росту інших [14]. Fuller трактує поняття «пробіотики» як живі мікроорганізми, що при введенні в організм хазяїна спричиняють добрий ефект за рахунок корекції кишкової мікрофлори. Раггер термін «пробіотики» запропонував для позначення природних ад'ювантів – живих мікроорганізмів, введення яких до організму сприяє підтриманню та відновленню біологічного балансу його нормофлори та справляє на нього позитивну дію [10; 14]. Gibson і Robefroid [14] називають пробіотиками живі мікроорганізми, що повинні бути присутніми у досить великій кількості, залишатися стабільними та життєздатними як при збереженні, так і після введення до організму; повинні адаптуватися в організмі хазяїна та впливати на його здоров'я.

Незважаючи на різноманітні формулювання поняття «пробіотики», більшість дослідників називають ним лікарські засоби, що містять як діючу речовину певні штами мікрофлори здорового організму людини. Відомо, що бактерії, які у нормі заселяють слизові, чинять антагоністичну дію відносно патогенної й умовно-патогенної мікрофлори, забезпечують вітамінотвірну та ферментативну функції [5].

При конструюванні пробіотичних препаратів повинні відбиратися штами мікроорганізмів, що відповідають визначеним вимогам. Вони зводяться до наступного:

- 1) безпека штамів, призначених для введення їх до складу пробіотиків;
- 2) наявність антагоністичних властивостей до патогенної та умовно-патогенної мікрофлори;
- 3) стійкість до літичних ферментів слини (лізоцим), травних ферментів (пепсин, ліпаза) і до жовчі;
- 4) стійкість до дії кислоти шлункового соку;
- 5) адгезивна активність і колонізаційна резистентність;
- 6) стійкість до антибіотиків;
- 7) вища порівняно з коменсальною мікрофлорою питома швидкість росту пробіотичних культур, що дозволяє їм швидше освоїти живильний субстрат, а отже, збільшити продуктивність клітин пробіотичних штамів;
- 8) штамп повинен бути технологічним при виробництві (стабільним при культивуванні та інших стадіях технологічного процесу);
- 9) імуномодуляторна та імуногенна дія пробіотика [2; 10; 13].

Існують різні форми випуску пробіотиків, способи та схеми їх застосування. Більшість пробіотиків призначена для лікування та профілактики дисбактеріозів шлунково-кишкового тракту. Одиничні розробки пробіотиків для санації ротової порожнини та уrogenітальної системи. Далі наведено перелік основних пробіотичних препаратів.

У нашій країні широко використовується препарат Лактобактерин, створений на початку 1970-х років на основі лактобактерій виду плантарум (*plantarum*). Застосовується при гострих кишкових інфекціях, а також для санації статевих шляхів.

Ацилакт застосовується при запальних захворюваннях слизової порожнини рота, а також при дисбактеріозах кишечника та піхви. Являє собою суміш живих високо-антагоністичних ацидофільних лактобактерій [4].

Аципал – комбінований препарат, що складається з ацидофільних лактобактерій та інактивованих прогріванням кефірних грибків (*Kefir greins*). Володіє високою антагоністичною та кислототвірною активністю [5].

Колібактерин – найперший вітчизняний бактеріальний препарат. Він містить антагоністично активний штам непатогенної кишкової палички М-17, застосовується в основному при хронічних захворюваннях товстої кишки у людей похилого віку [1].

Одним із перших бацилярних пробіотиків, що з'явилися на фармацевтичному ринку, є Бактисубтил. В основі препарату штам *B. cereus* 5832. Призначається при діареях різної етіології, а також при пієлонефритах, викликаних ентеробактеріями чи протеем тощо [15].

У 1989 р. створено, а в 1992 р. впроваджено у практику охорони здоров'я пробіотик – Біоспорин. До складу препарату входять два штами споротвірних бактерій – *B. subtilis* № 3 і *B. licheniformis* № 31 у вегетативній і споровій формах. Застосовують для профілактики та лікування дисбактеріозів, гострих кишкових інфекцій, гнійних ран тощо [3].

Єдиним дріжджовим препаратом на європейському фармацевтичному ринку є Ентерол-250, у якому міститься *Saccharomyces boulardii*. Має антагоністичну активність відносно патогенних клостридій, шигел, сальмонел тощо, а також найпростіших; підсилює місцевий імунний захист кишечника; збільшує активність ферментів лактози, мальтози тощо [7].

Найвідомішим і широко застосовуваним препаратом-еубіотиком є Біфідумбактерин, що містить ліофільно висушені живі клітини штамів *Bifidobacterium bifidum*. Є базовим препаратом для кореляції біоценозу кишечника у дітей. Показання до застосування біфідумбактерину дуже широкі, але основними з них є дисфункції кишечника внаслідок дисбактеріозу, гострі кишкові інфекції, застосування з профілактичною метою в ослаблених дітей з анемією, рахітом, діатезом і при ранньому переведенні дітей із грудного на штучне вигодовування тощо [5].

Біфідумбактерин-форте – комплексний препарат, що містить іммобілізовані на активованому вугіллі *B. bifidum*. Препарат має усі властивості біфідумбактерину й одночасно антитоксичну дію, властиву сорбенту. Препарат спричиняє вираженіший клінічний ефект, здатний нормалізувати порушений біоценоз кишечника у коротший термін порівняно зі звичайним біфідумбактерином [6; 11; 12].

Біфіформ – комбінований препарат, що містить *Bifidobacterium longum* і *Enterococcus faecium*. Призначений для профілактики та лікування дисбактеріозу кишечника.

Лінекс – пробіотик багатокомпонентний, який містить ліофілізат біфідобактерій, лактобактерій і фекального ентерокока. Підтримує та регулює рівновагу кишкової мікрофлори [4].

Вагілак – являє собою сконцентровані молочнокислі бактерії, що володіють пробіотичними властивостями. Використовується як вагінальний пробіотик [10].

Застосовуються і такі препарати як Біфіліз (сполучення біфідобактерій і лізоциму), Біфідин (*Bifidobacterium adolescentis*), Біфілонг (містить фізіологічні для дітей і дорослих види – *B. bifidum* і *B. longum*), Біфікол (суміш біфідобактерій і кишкової палички) [5], Лактинекс (комбінація із *L. acidophilus* і *L. bulgaricus*), Біобактон (ліофілізат ацидофільної палички штаму 12Б) [10], Біофлор (екстракт овочів, трав, прополісу, ферментований живими бактеріями *E. coli* М-17, Біококтейль НС плюс (живі клітини *E. coli* М-17 у комплексі з екстрактом сої, буряка, петрушки, м'яти, кропу, часнику та прополісу) [1], Субалін (рекомбінантний штам *Bacillus subtilis* 2335/105), Gereobiogen (*B. cereus*), Споробактерин (на основі *B. subtilis*) [18], А-бактерин (ліофілізат *Aerococcus viridians* штаму № 167, виділеного з грудного молока), біофлорин (містить *Enterococcus faecium*) [3], Біфацид (сухий комплексний препарат, що містить лікувальні дози життєздатних біфідо- та лактобактерій), Біфідофілус флора форс (біологічно активна добавка до їжі, містить *L. acidophilus* і *B. longum*), Йогурт (ліофілізат *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *B. bifidum*, *L. bulgaricus* і *S. thermophilus*), Мальтидофілус (висушені холодом *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* і *S. thermophilus* на основі козячого молока чи морквяного соку) [1].

Із метою корекції глибоких порушень мікробіоценозу кишечника, коли фіксуються нетипові форми мікроорганізмів-симбіонтів, використовуються комбіновані мікробні препарати, що містять цілий комплекс штамів, однотипних за механізмом своєї дії: Омніфлора, Тетралактан, Мутафлор, Лактобацилін, Ейглан, Любіфідус, Біфігене, Біолактиль і Нормофлор [10]. Вибір препарату для лікування конкретного хворого залежить від виразності якісних і кількісних змін мікрофлори, про що роблять висновок за результатами бактеріологічного аналізу на патогенну й умовно-патогенну мікрофлору [5].

Пробіотики знаходять застосування й у ветеринарній практиці. Перелік пробіотиків, що найчастіше застосовуються для сільськогосподарських тварин: Любіфідус, Біфідаген, Лактомікс, Пробіоз, Галако, Лактосан тощо. Одні використовуються як лікувально-профілактичні препарати, інші – рістстимулювальні [10].

Терапевтичні властивості пробіотичних препаратів безпосередньо визначаються біологічними особливостями мікроорганізмів, які є основою цих препаратів.

Мікроорганізми, які використовуються у виробництві пробіотиків

На сьогоднішній день у різних країнах створено велику кількість біологічно активних добавок і фармакологічних препаратів, основу яких складають культури представників нормальної мікрофлори людини. Як правило, використовуються різні штами біфідо- та лактобактерій, непатогенні штами кишкової палички та ентерококів [12].

Найвідоміші мікроорганізми, що використовуються як основа біопрепаратів – лактобацили. Відомо про використання *Lactobacillus plantarum*, *L. fennentum*, *L. casei*, *L. amylovorus*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. reuleri*, *L. lactis* для виробництва пробіотиків [18].

Біфідобактерії – інша група мікроорганізмів, на основі якої базуються багато пробіотиків. Застосовують *Bifidobacterium animalis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. thermophilus* [9].

Лактобактерії разом із біфідобактеріями – основні представники нормальної мікрофлори людини. Вони домінують у кишечнику з перших днів життя [10], мають високу здатність до колонізації епітелію травного тракту, що виступає як захисний бар'єр на шляху проникнення патогенної мікрофлори й, у свою чергу, забезпечують

стабілізацію нормального складу мікробіоценозу кишечника. Завдяки цим властивостям дані мікроорганізми найчастіше використовують при створенні пробіотиків.

Кишкові палички почали вживати як основу біопрепаратів ще з 1918 року в складі Мутафлору. Ефективність препарату пов'язували зі зменшенням утворення в кишечнику токсичних речовин під впливом нормалізованої кишкової мікрофлори. У СРСР для розробки нового пробіотика застосували штами *E. coli* М-17, що вирощували на молоці. Коліпростокваша мала короткий термін зберігання й тому не одержала значного поширення. У 1961 році отриманий ліофільно висушений препарат – сухий Колібактерин, що за ефективністю не поступався рідинній молочній формі [8].

На сьогодні розроблено нові форми Колібактерину – таблетки, капсули, свічки. Кишкові палички – основа й інших препаратів: Нормофлорину, Коліфлорану, Мутафлору, Нормофлору [8].

Для розробки пробіотиків використовують й інші мікроорганізми, що належать до роду *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Aerococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*. Найчастіше вони входять до складу заквасок для одержання ферментованих кисломолочних продуктів із пробіотичними властивостями (йогурти, м'які та тверді сири, кисляк тощо). Дотепер основою для виробництва йогурту є штам *S. salivarius* subsp. *termophilus*. До складу пробіотиків входять *Streptococcus faecium*, *S. lactis*, *S. cremoris*, *S. diacetylactis*, *S. intermedius* [18].

Повіdomляють також про застосування дріжджів для виробництва пробіотиків. Препарат, до складу якого входили *Saccharomyces boulardii*, виявився ефективним при лікуванні кишкових інфекцій, зумовлених *Clostridium difficile*. Виражений клінічний ефект отримано також при використанні *Saccharomyces cerevisiae* [10].

В останні роки споротвірні бактерії роду *Bacillus* як найяскравіші представники екзогенної мікрофлори привертають увагу дослідників. Досить великий арсенал видів цього роду випробували як терапевтичні засоби при лікуванні гострих і хронічних інфекцій: *B. cereus*, *B. polymyxa*, *B. coagulans*, *B. brevis*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. laterosporus* тощо. Однак найповніше вивчені види *B. subtilis* і *B. licheniformis*. Проте існує погляд, що використання грампозитивних споротвірних бактерій для розробки пробіотиків недоцільне, при цьому слід розробляти препарати на основі індигенної мікрофлори людини.

Висновки

Використання живих культур мікроорганізмів (представників нормальної мікрофлори) у складі пробіотичних препаратів для профілактики та лікування дисбактеріозів різної етіології – новий перспективний напрямок медицини. Ці дослідження вимагають поглибленого дослідження механізмів взаємин мікро- та макроорганізму. Перспективна також розробка багатоконпонентних препаратів, до складу яких, окрім мікроорганізмів, входять пребіотики.

Бібліографічні посилання

1. **Барановский А. Ю.** Дисбактериоз и дисбиоз кишечника / А. Ю. Барановский, Э. А. Кондрашина. – СПб. : Питер, 2002. – 224 с.
2. **Дубровская М. И.** Пробиотики и формирование микробиоценоза у детей первого года жизни / М. И. Дубровская, Ю. Г. Мухина, О. К. Нетребенко // Лечащий врач. – 2003. – № 5. – С. 58–60.
3. **Імунобіологічні** препарати / В. В. Смірнов, О. П. Сельнікова, В. Д. Думанский та ін. – К. : Моріон, 2001. – 200 с.

4. **Компендиум 2000/2001** – лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К. : Морион, 2000. – 1456 с.
5. **Модифицирующее** действие *Saccharomyces boulardii* на биологические свойства энтеробактерий / Д. А. Кириллов, Н. Б. Перунова, О. Е. Челпаченко и др. // ЖМЭИ. – 2002. – № 4. – С. 57–59.
6. **Нарушение** интерферонового статуса у детей с острой респираторной инфекцией и его коррекция Бифидумбактерином-Форте / Е. А. Лыкова, А. А. Воробьев, А. Г. Боковой и др. // ЖМЭИ. – 2001. – № 2. – С. 65–67.
7. **Осипова И. Г.** Некоторые аспекты механизма защитного действия колибактерина и споровых эубиотиков и новые методы их контроля: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – М., 1997. – 25 с.
8. **Пробиотики** на основе живых культур микроорганизмов / В. В. Смирнов, Н. К. Коваленко, В. С. Подгорский и др. // Микробиол. журн. – 2002. – Т. 64, № 4. – С. 62–80.
9. **Разработка** и клиническая оценка пробиотика Бифидумбактерин Форте / А. В. Григорьев, В. М. Бондаренко, Н. А. Абрамов и др. // ЖМЭИ. – 1997. – № 3. – С. 92–96.
10. **Хорошилова Н. В.** Иммунотерапевтические аспекты применения пробиотиков в клинической практике // Лечащий врач. – 2003. – № 2. – С. 71–73.
11. **Шевелева С. А.** Пробиотики, пребиотики и пробиотические продукты. Современное состояние вопроса // Вопр. питания. – 1999. – № 2. – С. 32–40.
12. **Якушенко М. Н.** Регуляция микрoэкологических нарушений кишечника у новорожденных детей с перинатальной патологией новым антибиотиком Бифидумбактерином-Форте / М. Н. Якушенко, Ж. М. Тхалапсоева, В. М. Бондаренко // ЖМЭИ. – 1997. – № 6. – С. 18–22.
13. **Effect** of a multispecies probiotic supplement on quantity of irritable bowel syndrome-related intestinal microbial phylotypes / A. Lyra, L. Krogius-Kurikka, J. Nikkilä et al. // BMC Gastroenterol. – 2010. – N 10. – P. 110.
14. **Fuller R.** History and development of probiotics // Probiotics. The scientific basis. – London: Chapman and Hall, 1992. – P. 1–9.
15. **Petrof E. O.** Probiotics and gastrointestinal disease: Clinical evidence and basic science // Antiinflamm. Antiallergy Agents Med. Chem. – 2009. – Vol. 8, N 3. – P. 260–269.
16. **Production** of functional probiotic, prebiotic and synbiotic ice creams / T. Di Criscio, A. Fratianni, R. Mignogna et al. // J. Dairy Sci. – 2010. – Vol. 93, N 10. – P. 4555–4564.
17. **Survival** of *Lactobacillus rhamnosus* strains in the upper gastrointestinal tract / I. Pitino, C. L. Randazzo, A. Lo Curto et al. // Food Microbiol. – 2010. – Vol. 27, N 8. – P. 1121–1127.
18. **Tanaka R.** The effect of the ingestion of fermented milk with *Lactobacillus casei* shirota on the gastrointestinal microbiol ecology in healthy volunteers // Gut Flora and Health – Past, Present and Future. – London, New York : Roul Society of Medicine Press Limited, 1996. – P. 37–45.

Надійшла до редакції 12.09.2010