

ПРОБІОТИКИ ЯК СУЧАСНІ ПРЕВЕНТИВНІ ПРЕПАРАТИ ЗАХВОРЮВАНЬ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

© Лях В. Р., Червецова В. Г., Кричківська А. М., 2018

Розглянуто нормальну мікрофлору шлунково-кишкового тракту людини, зокрема функції та класифікацію лактобактерій. Проаналізовано наявність пробіотичних препаратів на фармацевтичному ринку України. Описано основні характеристики пробіотиків. Проведено дослідження для двох пробіотичних препаратів – "Лінекс" та "Лактовіт форте". Визначено вплив рН середовища на розчинність та стійкість капсул лікарських препаратів, кількість активних мікроорганізмів, здійснено мікроскопування лактобактерій.

Ключові слова: пробіотичні препарати, лактобактерії, біфідобактерії, нормальна мікрофлора кишечника.

V. R. Liakh, V. G. Chervetsova, A. M. Krychkovska

PROBIOTICS AS A MODERN PREVENTIVE DRUGS OF GASTROINTESTINAL TRACT DISEASES

© Liakh V. R., Chervetsova V. G., Krychkovska A. M., 2018

The normal microflora of the human gastrointestinal tract, in particular the function and classification of lactobacilli, is considered. The analysis of the presence of probiotic drugs in the pharmaceutical market of Ukraine was carried out. The main characteristics of probiotics are described. Research was conducted for two probiotic drugs – "Linex" and "Lactovit Forte". The influence of pH on the solubility and stability of capsules of medical preparations, number of active microorganisms, microscopy of lactobacilli has been determined.

Key words: probiotic drugs, lactobacterium, bifidobacterium, normal microflora of intestinal tract.

Постановка проблеми. В наш час структура харчування у розвинених країнах характеризується незбалансованістю за складом нутрієнтів, вітамінів, мікроелементів, харчових волокон, підвищеним вмістом антибактеріальних компонентів, консервантів, стабілізаторів, гормонів, нерегулярністю, різкими змінами раціонів і режимів харчування.

Однак очевидно, що найістотніший внесок у парадигму сучасної захворюваності привнесло широке використання антибактеріальних засобів. З моменту відкриття антибіотиків неухильно зростає їхнє споживання у всіх країнах. На світовому ринку нині річна вартість виготовлення антибіотиків перевищує 10 млрд доларів США. Загалом антибіотики відіграли свою, безсумнівно, позитивну роль у боротьбі з інфекційними захворюваннями. Але незабаром стало зрозуміло, що у них є побічні ефекти.

Найзначущішим з урахуванням поширеності наслідком антибіотикотерапії вважають дисбактеріоз кишечника. Навіть короточасний щоденний контакт з антимікробними препаратами призводить до зміни кишкового мікробіоценозу, що часто можна спостерігати, наприклад, у працівників фармацевтичних виробництв. Важливо й те, що паралельно зі зростанням споживання антибіотиків зростає захворюваність нозологічними формами, що вважалися рідкісними, казуїстичними в доантибіотиковий період.

У комплексній терапії провідну роль відіграють пробіотичні препарати, ефективність яких залежить від біологічних властивостей бактерій виробничих штамів, що входять до їх складу.

Пробіотики – живі мікроорганізми, які можуть позитивно впливати на здоров'я людини, нормалізувати склад і функції мікрофлори шлунково-кишкового тракту (ШКТ).

Наявність у пробіотиків високої антагоністичної активності щодо умовно-патогенних бактерій і помірно виражений рівень адгезивної активності є необхідними чинниками, що забезпечують порівняно швидке якісне і кількісне відновлення популяції аутофлори пацієнта, зокрема індикаторних видів лакто- і біфідобактерій.

Тому вивчення сучасних пробіотичних препаратів, які могли би покращити стан ШКТ, є проблемою актуальною.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Склад мікрофлори кишечника змінюється залежно від різних ділянок травної системи. Крім того, на її склад впливають й інші фактори, такі як вік, стать, харчування, спосіб життя людини тощо.

У шлунково-кишковому тракті бактерії розподілені по-різному: в шлунку ріст мікроорганізмів обмежується кислим середовищем (низький рівень pH), уздовж тонкої кишки їх концентрація поступово збільшується, а найбільше бактерій у товстому кишечнику. Анаеробні бактерії становлять 95 % всієї мікрофлори кишечника, тоді як аеробні – лише 5 %.

Ротова порожнина, шлунок, тонка і товста кишка – кожен з цих ділянок заселяють різні типи бактерій. Бактерії в ротовій порожнині виконують захисну функцію. Бактерії шлунково-кишкового тракту (лактобацили, ентерококи, бактероїди та інші) – бар'єр на шляху інфекцій.

Мікрофлора кишечника, або мікробіота, – це колонії добре організованих і вузькоспеціалізованих мікроскопічних організмів, які налічують понад сотню видів, передусім бактерій. Мікробіота закріплюється на слизовій оболонці кишечника і утворює на ній щільну своєрідну біологічну плівку. Мікробіота своєю збалансованою роботою підтримує нормальну життєдіяльність всього організму. Вона перебуває у симбіотичних, тобто постійних, взаємовигідних і незамінних відносинах зі своїм господарем – людиною.

Мікрофлора слизової оболонки кишечника здатна самостійно відновлюватися і підтримувати якісну і кількісну рівновагу серед своїх численних колоній. Симбіотичні відносини між людиною і мікроорганізмами, що живуть у слизовій його кишечника, дають змогу обом існувати в оптимальному режимі, чинячи успішний опір дії агресивного навколишнього середовища, що постійно змінюється [1].

Основною функцією мікрофлори кишечника (мікробіоти) вважають утворення та підтримання динамічної рівноваги в мікробних колоніях та узгодження їхньої взаємодії з макроорганізмом. Цей процес називається **колонізаційною резистентністю**. Саме така своєрідна екологічна мікросистема може успішно протидіяти атакам хвороботворних мікроорганізмів зовнішнього середовища. Коли стан екосистеми порушується, виникає збій у всіх системах і органах.

У шлунково-кишковому тракті людини (переважно в товстій кишці) живуть мікроорганізми понад 400 видів. У здорової людини лише 15 % з них мають характеристики патогенних чи умовно-патогенних. У кишкової популяції домінують родини *Lactobacillus* і *Bifidobacterium*.

Bifidobacterium – непатогенні неспороутворювальні анаероби – це найбільша частина мікробної маси шлунково-кишкового тракту протягом усього життя. Їхній вміст у товстій кишці дорослої людини досягає 10^8 – 10^{11} колонієутворювальних одиниць (КУО) на 1 г вмісту. До біфідобактерій, що населяють кишечник людини, належать: *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*. Біфідобактерії синтезують амінокислоти, білки, вітаміни групи B, вікасол, нікотину і фолієву кислоти, речовини з антиоксидантною активністю.

Бактерії родини *Lactobacillus* – непатогенні коротколанцюгові неспороутворювальні облигатні або факультативні анаероби з високою ферментативною активністю. До лактобацил, що мешкають у кишечнику, належать: *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*. Молочнокислі бактерії століттями використовували люди для отримання різновидів молочних продуктів.

Серед аеробних мікроорганізмів найважливішу роль в мікробному біоценозі кишечника виконує кишкова паличка. *E.coli* виробляє вітаміни (тіамін, рибофлавін, піридоксин, вікасол, нікотинову, фолієву, пантотенову кислоти), бере участь в обміні холестерину, білірубину, холіну, жовчних і жирних кислот і опосередковано впливає на всмоктування заліза і кальцію. Показано, що кишковій мікрофлорі належить важлива роль в підтримці імунологічної реактивності та толерантності організму [2].

Мета роботи – проаналізувати наявність пробіотичних препаратів на фармацевтичному ринку України; дослідити два пробіотичних препарати – “Лінекс” та “Лактовіт форте”, визначити їх склад та деякі фізико-хімічні характеристики.

Викладення основного матеріалу і обговорення результатів. Формування нормальної мікрофлори кишечника – тривалий і складний процес. Фактично з народження людський організм починають заселяти різні мікроорганізми, впродовж декількох років відбувається дозрівання збалансованого мікросвіту. І хоча з віком кількість і склад мікроорганізмів змінюється (під час старіння зменшується відносний вміст біфідобактерій і підвищується вміст кишкової палички), унікальність і баланс мікрофлори кишечника зберігаються упродовж усього життя людини.

Мікробіота кишечника відіграє найважливішу роль у нормальному і злагодженому функціонуванні всіх систем організму. Вона – незамінна ланка в ланцюзі хімічних реакцій, що постійно відбуваються на всіх мікро- і макрорівнях організму, створюючи тим самим надійний захист і забезпечуючи баланс для всієї макросистеми – людини.

Однак є низка станів, що викликають загибель нормальної флори кишечника. Пробіотичні препарати використовують для того, щоб згладити та ліквідувати наслідки цих станів, швидше відновити нормальну мікрофлору ШКТ.

На фармацевтичному ринку України є кілька поколінь препаратів, які нормалізують мікрофлору кишечника [3, 4]:

Перше покоління – це монокомпонентні препарати, які містять лише один штам бактерій. До них належать “Лактовіт форте”, “Колібактерин”, “Біфідумбактерин”, “Лактобактерин”, “Трилакт”.

Друге покоління – засоби на основі бактерій, які в нормі не проживають в кишечнику, можуть пригнічувати розвиток патогенних мікроорганізмів. До самоелімінуювальних антагоністів зараховують “Біоспорин”, “Ентерол”, “Споробактерин”, “Сімбітер”.

Третє покоління – полікомпонентні препарати, які містять комбінацію декількох штамів бактерій і добавок: “Лінекс”, аналоги “Аципол”, “Біфіліз”, “Ацилакт”, “Біфіформ” тощо.

Четверте покоління – сорбовані біфидовмісні пробіотики, це живі бактерії нормофлори, іммобілізовані на сорбенті – “Пробіфор”, “Біфідумбактерин Форте”, “Флорін Форте”.

Пробіотики також поділяються за родом бактерій, що входять до їхнього складу (табл. 1)

Таблиця 1

Види основних промислових пробіотичних препаратів

	Український виробник	Імпортний виробник
Біфидовмісні	Біфідумбактерин-Біофарма	Біфікол, Біфіліз, Пробіфор, Біфіфор
Колівмісні	Колібактерин-Біофарма	Біофлор, Біфікор
Лактовмісні	Лактобактерин-Біофарма	Лінекс, Лактовіт форте, Біолактон, Ацилакт
Дріжджоподібні грибки, рід бацил, аерококів і сахароміцет	Біоспорин, Субалін	Ентерол, Бактиспорин, Бактисубтил, Ентерожерміна
Ентерококи	–	Лінекс, Біфіфірм

В Україні пробіотики виробляють лише на одному заводі “Біофарма”, решта продукції на ринку – це зарубіжні аналоги “Лінекс”, “Ентерол”, “Біфіформ”, “Лактовіт Форте”.

Для дослідження взяли два імпортовані препарати “Лінекс” та “Лактовіт Форте”.

Препарат 1. “Лінекс”

Лікарська форма. Капсули тверді.

Склад: діючі речовини: 1 капсула містить не менше ніж 1×10^7 КУО/мл антибіотикорезистентних молочнокислих бактерій: не менше ніж $4,5 \times 10^6$ КУО/мл *Lactobacillus acidophilus* (sp. *L. gasseri*), не менше ніж $3,0 \cdot 10^6$ КУО/мл *Bifidobacterium infantis*, не менше ніж $4,5 \cdot 10^6$ КУО/мл *Enterococcus faecium*.

Препарат 2. “Лактовіт Форте”

Лікарська форма. Капсули тверді.

Склад: діючі речовини: 1 капсула містить *Lactic acid bacillus* (*Bacillus coagulans* (*Lb. Sporogenes*)) – $1,2 \cdot 10^7$ КУО/мл.

В організмі людини молочнокислі бактерії живуть у кишечнику, де рН різний залежно від його відділів (рис.1).

Мета досліджу – визначити стійкість капсульних оболонок лікарських препаратів у моделях рН-середовищ шлунка та кишечника. Як модельні середовища різних відділів ШКТ використовували фізіологічні розчини з рН 2,1 та рН 8,2, рН розчинів вимірювали на портативному рН-метрі. Результати дослідження наведено в табл. 2 та на рис. 2.

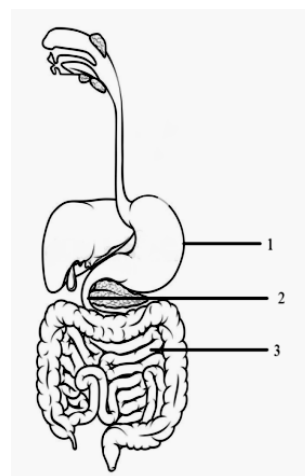
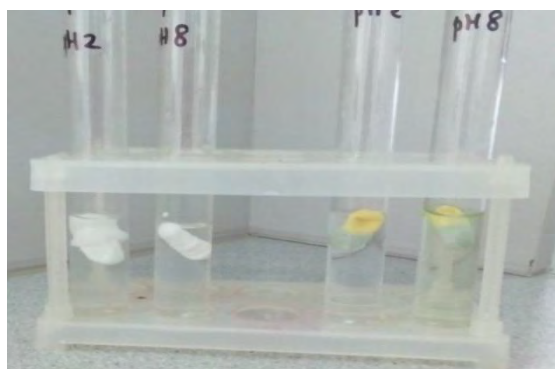


Рис. 1. 1 – шлунок рН – 1–2; 2 – дванадцятипала кишка рН – 5,6–7,9; 3 – тонкий кишечник рН – 7,5–9

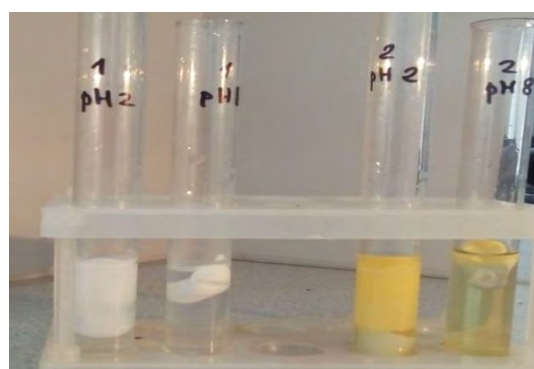
Таблиця 2

Визначення впливу рН на розчинення пробіотичних препаратів

Препарати Середовище	Час розчинення, хв	
	“Лінекс”	“Лактовіт Форте”
Кисле, рН 2,1	7	15
Лужне, рН 8,2	> 40	> 40



а



б

Рис. 2. Деформація капсул: а – початкова; б – кінцева

Капсули пробіотичних досліджуваних препаратів мають доставляти бактерії у кишковий тракт, де вони повинні адсорбуватися на стінках кишечника.

Результати дослідження показують, що структура капсул руйнується насамперед внаслідок дії кислого середовища, яке є в шлунку. Очікуване руйнування капсул у лужному рН відбувається значно пізніше. За результатами досліджу можна зробити висновок, що в кислому рН середовищі

шлунка капсула препарату починає руйнуватися для того, аби підвищити можливість максимального вивільнення бактерій у кишечнику, для виконання їхньої головної функції. Метою наступного досліді було підтвердження відповідної кількості колоній бактерій у препаратах “Лінекс” та “Лактовіт Форте”.

Згідно з інструкціями до досліджуваних препаратів “Лінекс” містить $4,5 \times 10^6$ КУО/мл *Lactobacillus acidophilus* (sp. *L. gasseri*), а “Лактовіт форте” – $1,2 \times 10^7$ спор *Lb. sporogenes*.

Визначення кількості колоній утворювальних мікроорганізмів здійснювали на середовищі сусло-агар (6⁰Б) з 1–2 % CaCO_3 . Для посіву брали стерильний фізіологічний розчин з вмістом капсули в чотирьох- та п'ятикратному розведенні. Всі досліді проводили у трикратній повторюваності. Чашки Петрі з колоніями молочнокислих бактерій помістили в термостат за температури 30 °С на п'ять діб, після чого провели підрахунок колоній.

Підрахунок здійснювали за допомогою “Пристрою для підрахунку колоній (ППБ)”. Результати наведено в табл. 3.

Таблиця 3

Кількість колоній молочнокислих бактерій

Розведення \ Препарат	Кількість колоній	
	“Лінекс”	“Лактовіт форте”
10^{-5}	10	20
10^{-4}	–	91

Завдяки досліді виявлено, що кількість колоній лактобактерій препарату “Лактовіт Форте” відповідає даним, що зазначені в інструкції (20 колоній за розведення 10^{-5} та 91 колонія за розведення 10^{-4}). Для препарату “Лінекс” підрахунок здійснено лише за розведення 10^{-4} , кількість колоній відповідала нормі.

Наступним кроком було визначення кислотності продуктів, отриманих у результаті зброджування молока лактобактеріями, що є в препаратах “Лінекс” та “Лактовіт форте”. Для зброджування використовували молоко “Селянське” 2,5 % жирності об'ємом 200 мл. Вміст кожної капсули досліджуваних препаратів становив $0,28 \pm 0,5$ г. Для порівняння кислотності використовували закваску “Фітойогурт” масою $0,29 \pm 0,5$ г, а також промисловий йогурт “Молокія” без наповнювачів (5 % закваски) та кефір “Селянський” 2,5 % жирності (5 % закваски).

Заквашене молоко помістили в термостат на 21 год за температури 30 °С. Наприкінці культивування проводили вимірювання титрованої кислотності згідно зі стандартною методикою [5].

Результати досліді наведено в табл. 4.

Таблиця 4

Порівняльна характеристика зброджувальної активності

Досліджуваний продукт	Кислотність, °Т
Молоко	18
Молоко із закваскою з кефіру “Селянський”	82
Молоко із закваскою з йогурта “Молокія”	98
Молоко із закваскою “Фітойогурт”	73
Молоко з препаратом “Лінекс”	25
Молоко з препаратом “Лактовіт форте”	25

Під час досліді виявлено, що пробіотичні препарати “Лінекс” та “Лактовіт форте” погано зброджують молоко. За 21 год утворились незначні згустки молока порівняно із молочними продуктами на заквасках із кефіру “Селянський”, “Молокія” та “Фітойогурт” і зміна кислотності була невелика – 7 °Т.

З отриманих колоній виготовляли мікроскопічні препарати, забарвлені фуксином, які розглядали в світлопольному мікроскопі “БІОЛАМ” (рис. 3).

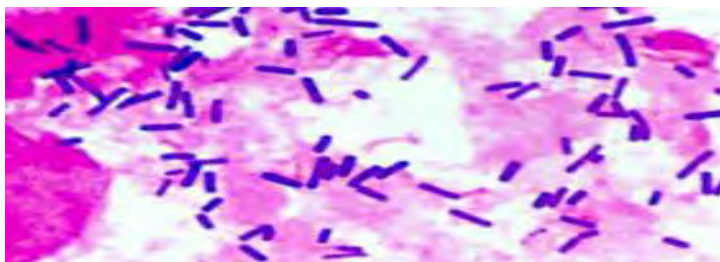


Рис. 3. Морфологія лактобактерій ($\times 1350$)

З рис. 3 видно, що морфологія бактерій, що вирости на селективному середовищі, відповідає представникам роду *Lactobacillus*.

Висновки. Розглянуто основні групи бактерій, які мають пробіотичні властивості та впливають на мікрофлору кишечника людини. Наведено класифікацію пробіотичних препаратів, що є на вітчизняному фармацевтичному ринку. Досліджено імпортовані препарати “Лінекс” та “Лактовіт форте”, а саме: визначено стійкість капсул до руйнування за допомогою моделювання рН-середовища, наявного в шлунково-кишковому тракті людини; виконано порівняльний підрахунок колоній молочнокислих бактерій; визначено зброджувальні властивості пробіотичних препаратів; здійснено мікроскопування молочнокислих бактерій.

1. Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A. *Microbiology, Third Edition*. – Dubuque: WCB, 1996. – 936 p. 2. Янковский Д. С., Дымент Г. С. *Микрофлора и здоровье человека*. – К.: ТОВ “Червона Рута-Турс”, 2008. – 552 с. 3. Пробиотики: порівняльна характеристика моно- і полікомпонентних препаратів // Сибірський медичний журнал. – 2011. – Т. 26, № 2, Вип. 2. – С. 45–48. 4. Дегтяренко Н. В., Шинкаренко Л. М., Дуган О. М. Критерії відбору пробіотичних штамів мікроорганізмів / Наукові записки. Т. 67. Біологія та екологія, 2007. – С. 30–36. 5. Машикін Н. І. *Технологія виробництва кисломолочних напоїв*. – К.: Вища школа, 2006. – 350 с. 6. <http://laktiale.com.ua/ua/mikroflora-kishechnika/> 7. http://ilive.com.ua/health/spisok-probiotikov_106775i15828.html.