

УДК 579.864.1:616.331

Г. В. Ямборко, канд. техн. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ВПЛИВ БАКТЕРІЙ РОДУ *LACTOBACILLUS* НА МІКРОБІОТУ КИШЕЧНИКУ ЩУРІВ

На моделі щурів доведено, що отриманий сухий бактеріальний концентрат *Lactobacillus acidophilus* OL4 здатний досить швидко корегувати порушення нормобіоти кишечника, викликані антибіотикотерапією, знижуючи кількісний вміст умовно-патогенних представників кишкової мікробіоти й одночасно збільшуючи чисельність лактобактерій. При цьому не було виявлено несприятливої дії препарату на організм експериментальних тварин. Отримані результати свідчать про можливість застосування сухої концентрованої закваски штаму *L. acidophilus* OL4 як лікувально-профілактичного засобу для корекції дисбіотичних порушень шлунково-кишкового тракту.

Ключові слова: лактобацили, сухий бактеріальний концентрат, антибіотикотерапія

В умовах зростання техногенних навантажень на природні біоценози і використання широкого спектру лікувальних засобів на основі антибіотиків в останні роки значно загострилася проблема профілактики та лікування захворювань, пов'язаних з порушенням природного мікробного складу кишково-шлункового тракту людей. Саме ці порушення обумовлюють різке зростання аліментарних захворювань серед населення урбанізованих територій України.

Медична практика намагається віддавати перевагу таким методам лікування, застосування яких забезпечує швидке одужання, а прояв небажаних побічних ефектів зводиться до мінімуму. Найбільш ефективними в лікуванні шлунково-кишкових інфекцій у наш час є антибіотики. Останні, однак, виявляють не тільки антибактеріальну дію. Як відомо, їх негативний вплив на макроорганізм досить різнобічний [1, 2, 5]. Крім загальних алергійних і анафілактичних реакцій, вони можуть викликати зміни в шлунково-кишковому тракті, зокрема дисбактеріоз кишечника, що вимагає додаткового лікування. Відомо, що в профілактичній і реабілітаційній терапії дисбактеріозу найкраще зарекомендували себе препарати і харчові добавки з живих мікробних культур бактерій роду *Lactobacillus* [2, 6 - 9]. Проте схильність останніх до зміни серологічних і культуральних властивостей, недостатня адаптованість до біоценозів кишкового тракту людини і низький рівень стійкості до антибіотиків утруднює використання цих мікроорганізмів як лікувально-профілактичного засобу [3, 4]. Саме з цих причин

одержання сухих препаратів на базі адаптованих до біоценозів шлунково-кишкового тракту антибіотикостійких лактобактерій є актуальною проблемою з медико-біологічних та біотехнологічних позицій [9].

Виходячи з вищенаведеного, метою цієї роботи було дослідження здатності отриманого сухого бактеріального концентрату *L. acidophilus* OL4 корегувати мікробіоту кишечника експериментальних тварин, порушену внаслідок антибіотикотерапії.

Матеріали і методи дослідження

У результаті скринінгу 40 штамів бактерій роду *Lactobacillus*, ізольованих із сирого молока, некомерційних кисломолочних продуктів і квашених овочів, виготовлених в Одеській області, отримано штам *L. acidophilus* OL4, перспективний для виробництва сухого концентрату. Він має більш виражену антагоністичну активність, ніж уже відомі промислові штами, середній ступінь адгезивної активності і виявляє полірезистентність до антибіотичних препаратів, що використовуються у медичній практиці. До того ж штам зберігає життєздатність у модельних умовах шлунково-кишкового тракту.

Медико-біологічні дослідження отриманого сухого бактеріального концентрату на основі штаму *L. acidophilus* OL4 провадилися Центральною санітарно-епідеміологічною станцією на водному транспорті України разом з кафедрою мікробіології і вірусології ОНУ. Дослідження активності цього концентрату *in vivo* здійснювали на чотирьох групах безпородних білих щурів масою 180-200 г (по 6 тварин у групі). Контрольна група (№ 1) перорально одержувала стерильний фізіологічний розчин (рН 7,0) в об'ємі 1 мл 1 раз на день. Тваринам групи № 2 щодня однократно вводили *per os* 1 мл фізіологічного розчину і антибіотик ампіцилін у терапевтичній дозі 180 мг/кг. Тварини групи № 3 одержували одну дозу сухого бактеріального концентрату штаму *Lactobacillus acidophilus* OL4 у вигляді суспензії в 1 мл фізіологічного розчину. В одній дозі препарату вміст живих мікробних клітин складав 10^9 колонієутворюючих одиниць (КУО). Тваринам групи № 4 аналогічним чином вводили суху ліофілізовану закваску «Наріне», яка містила 10^9 живих клітин *Lactobacillus acidophilus* 317/402 в одній дозі. Після 10 діб споживання антибіотика щурі групи № 2 протягом 10 діб щодня перорально отримували одну дозу сухого бактеріального концентрату штаму *L. acidophilus* OL4. До початку експерименту і на 10, 20 і 30 доби відбирали проби фекалій. Готували ряд серійних розведень досліджуваного матеріалу у фізіологічному розчині і по 0,1 мл кожного висівали на середовище Ендо для виділення ентеробактерій, на середовище МРС – лактобактерій, на молочно-жовточно-сольовий агар – стафілококів, на 5 % кров'яний агар – гемолізуючих мікроорганізмів, на середовище Сабуро - дріжджеподібних грибів роду *Candida*, у конденсаційну воду по Шукевичу – протей.

Результати дослідження

Потенційне застосування сухих бактеріальних препаратів молочнокислих бактерій як засобів, призначених для корекції складу кишкової мікробіоти, вимагає доказу їх антагоністичної активності *in vivo* [3, 5]. За об'єкт досліджень використовували білих безпородних щурів, що мають досить близький людському родовий склад кишкової мікробної популяції.

Результати вивчення впливу сухого бактеріального концентрату ацидофільної палички на мікробіоту кишечника експериментальних тварин наведені на рис. 1.

Як показав аналіз кишкової мікробіоти щурів, що одержували антибіотик ампіцилін, через 10 діб після початку експерименту чисельність бактерій роду *Lactobacillus* різко зменшується – на 4 порядки в порівнянні з контрольною групою. У тест-групі № 2 по закінченні введення антибіотика спостерігали зростання умовно-патогенної мікробіоти. У 80 % тварин спостережено діарею. Через 10 діб після початку курсу реабілітаційної терапії у фекаліях тварин істотно зменшився вміст гемолітичних стафілококів, стрептококів, а також кількість лактозонегативних і слабоферментативних ешерихій. В протилежність цьому вміст лактобацил зріс, хоч і був у 1,5 рази меншим у порівнянні з рівнем цих мікроорганізмів у контрольній групі. Через 20 діб після початку прийому досліджуваного сухого бактеріального концентрату вміст лактобацил у фекаліях тварин групи № 2 приблизно відповідав такому до початку експерименту.

У тварин третьої та четвертої тест-груп протягом усього періоду прийому бактеріальних концентратів вміст лактобактерій постійно зростав з одночасним зниженням кількості умовно-патогенних мікроорганізмів. Однак, чисельність дріжджеподібних грибів роду *Candida* для тварин даних тест-груп зменшувалась незначно у порівнянні з контролем. Через 20 днів після закінчення прийому препаратів спостерігали падіння вмісту лактобацил у фекаліях тварин четвертої групи, а у фекаліях тварин третьої групи воно було значно вищим, ніж до початку експерименту.

Після 10-добового прийому лактобактерій стан тварин третьої та четвертої груп залишився нормальним: щурі добре поїдали корм, поведіння було активним, рухливість не змінилася. Шерстяний покрив тварин був сухим, блискучим, видимі слизові – блідо-рожеві. У ході експерименту не було виявлено статистично значимих змін маси тіла щурів третьої групи у порівнянні з контролем. Морфологічні дослідження, проведені по закінченні експерименту, не виявили достовірних відмінностей від контролю для таких показників, як відносна маса печінки, нирок, селезінки і надниркової залози. Гістоструктура внутрішніх органів тварин третьої та четвертої досліджуваних груп залишилася в межах норми: у тканинах печінки, нирок, селезінки, тонкого і товстого кишечника піддослідних тварин патологічних змін після застосування сухого бактеріального концентрату *L. acidophilus* OL4 не спостерігали. Все це свідчить про здатність препарату інгібувати ріст умовно-патогенних представників кишкової мікробіоти без

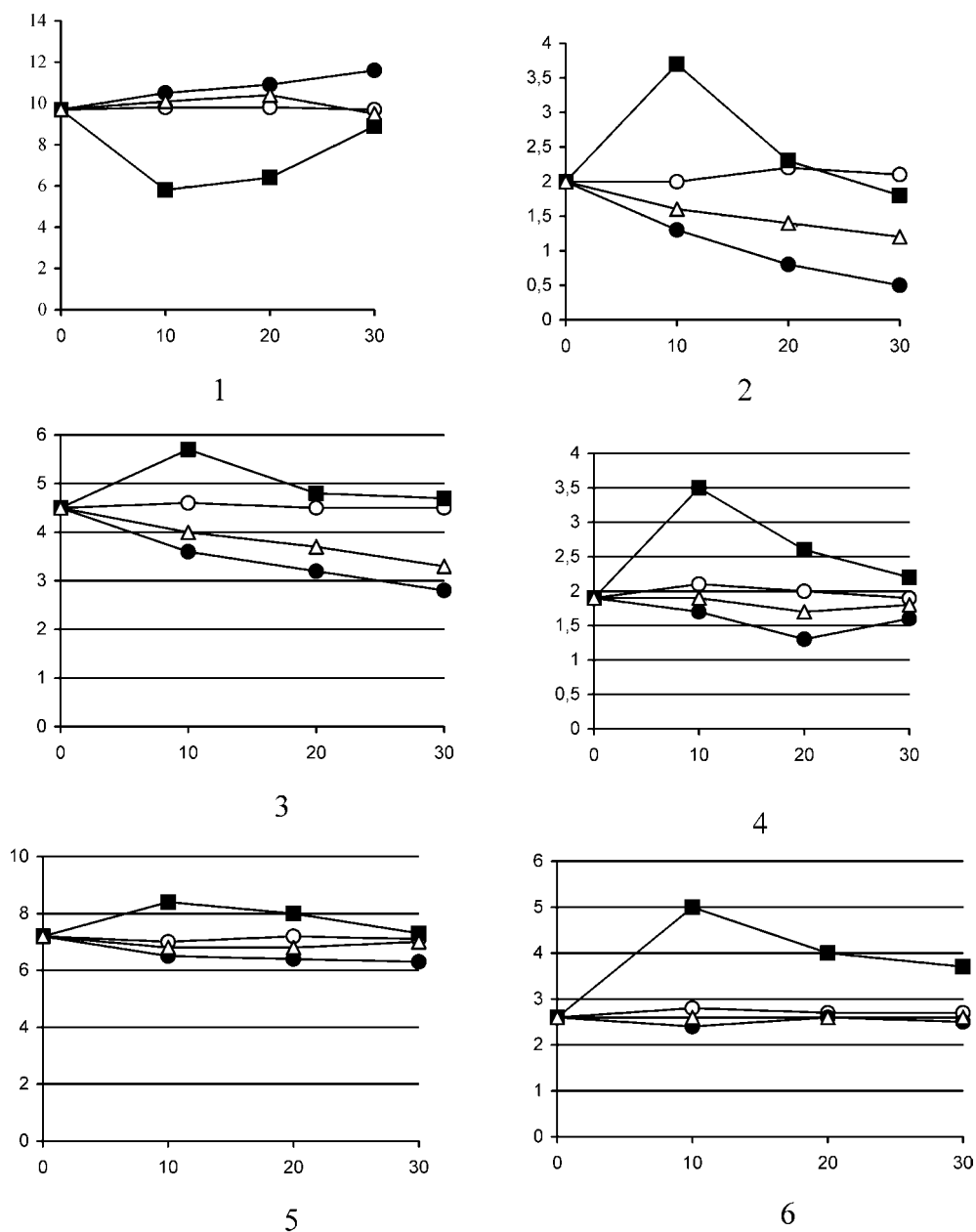


Рис. 1. Вміст мікроорганізмів: 1 – Lactobacillus; 2 – Staphylococcus; 3 – Streptococcus; 4 – Proteus; 5 – Escherichia coli; 6 – Candida в 1 г ваги вологих фекалій щурів. По вертикалі – вміст мікроорганізмів (lg N/г); по горизонталі – строки досліджень (доби) – група 1 (■); – група 2; – група 3; – група 4.

будь-якої шкоди для макроорганізму. Встановлено, що при пероральному введенні ампіциліну у тварин розвивалися дисбіотичні порушення у кишечнику, а за комбінованого використання антибіотика із сухим препаратом на основі лактобацилл вдалося в значній мірі запобігти розвитку дисбактеріозів. З'ясувалося, що сухий бактеріальний концентрат *L. acidophilus* OL4 має здатність досить швидко коригувати порушення нормобіоти кишечника, викликані антибіотикотерапією, знижуючи кількісний вміст умовно-патогенних представників кишкової мікробіоти без прояву негативних впливів концентрату на організм теплокровних тварин. Отримані результати свідчать про можливість самостійного застосування сухої концентрованої закваски штаму *Lactobacillus acidophilus* OL4 як лікувально-профілактичного препарату, що коригує кишкову мікробіоту.

Література

1. *Дисбактериозы кишечника, причины возникновения, диагностика, применение бактериальных биологических препаратов.* – М.: Высшая школа, 1999. – 44 с.
2. *Новый фармакотерапевтический подход к лечению и профилактике нарушений биоценоза кишечника.* Информация фирмы “ЛЕК” // Український медичний часопис. – 1998. – Т. 4, № 2. – С. 30 – 32.
3. *Влияние комплексного пробиотика споролакта на микробиоценоз кишечника теплокровных* / Смирнов В. В., Резник С. Р., Вьюнитская В. А., Сорокулова И. Б., Литвин В. П. // *Мікробіол. журн.* – 1995. – Т. 57, № 4. – С. 42 – 49.
4. *Федоровская Е. А., Немировская Л. Н.* Взаимосвязь микробных экосистем и иммунитета человека // *Мікробіол. журн.* – 1999. – Т. 61, № 5. – С. 85 – 96.
5. *Вплив антибіотичних препаратів та їх комбінацій з пробіотиками на мікрофлору кишечника мишей* / Фурзікова Т. М., Сорокулова И. Б., Сергійчук М. Г., Січкач С. В., Смірнов В. В. // *Мікробіол. журн.* – 2000. – Т. 62, № 3. – С. 26 – 35.
6. *Хамнаева Н. И., Перетока Е. Г.* Разработка бактериального препарата лакто- и бифидобактерий // 2 Всерос. науч.-тех. конф., Углич, 1-4 окт., 1996: Тез. докл., Ч. 2. – Углич, 1996. – С. 660.
7. *Шабетник Г. Д., Кузьмин В. М.* Новое в производстве сухих бакконцентратов и биологически активных добавок // *Молочная промышленность.* – 1999. – № 8. – С. 27 - 29.
8. *Ямборко Г. В.* Розробка технології отримання сухого концентрату молочнокислих бактерій: Автореф. дис. ... канд. тех. наук: 03.00.20 / Міністерство освіти і науки України, Одеська державна академія харчових технологій. – Одеса, 2002. – 17 с.
9. *Aiba Y., Suzuki N., Kabir A. M. et al.* Lactic acid mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model // *Am. J. Gastroenterol.* - 1998. – V. 93, № 11. – P. 2097 – 2101.

А. В. Ямборко

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
каф. микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

**ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА LACTOBACILLUS НА МИКРОБИОТУ
КИШЕЧНИКА КРЫС**

Резюме

В опытах на крысах показано, что полученный сухой бактериальный концентрат *Lactobacillus acidophilus* OL4 обладает способностью достаточно быстро корригировать нарушения нормобиоты кишечника, вызванные антибиотикотерапией, снижая количественное содержание условно-патогенных представителей кишечной микробиоты и одновременно увеличивая численность лактобактерий. При этом не было выявлено неблагоприятного действия сухого препарата на организм экспериментальных животных. Полученные результаты позволяют сделать заключение о возможности самостоятельного применения сухой концентрированной закваски штамма *L. acidophilus* OL4 в качестве лечебно-профилактического средства для коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: лактобациллы, сухой бактериальный концентрат, антибиотикотерапия.

G. V. Yamborko

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

INFLUENCE OF LACTOBACILLUS ON THE RATS' INTESTINE

Summary

It has been shown on a rat model that the dry bacterial concentrate *Lactobacillus acidophilus* OL4 has the capacity to correct normal biota of rats intestine caused by antibiotic therapy rather quickly, reducing the quantitative contents of the pathogenic representatives of intestinal flora and increasing simultaneously the lactobacilli contents. The adverse action of dry preparation on the organism of experimental animals has not been revealed. The received results allow us to make a conclusion that the dry concentrate *L. acidophilus* OL4 can be applied as a separate treatment for correction of disbacteriosis.

Key words: lactobacilli, dry bacterial concentrate, antibiotic therapy.