



УДК 615.331:616.34-008.314.4-053.2:612.017

АБАТУРОВ А.Е.¹, ГЕРАСИМЕНКО О.Н.¹, ВЫСОЧИНА И.Л.¹, КРИВУША Е.Л.¹, АГАФОНОВА Е.А.¹, ГИРИНА И.А.², УЗИЛЕВСКАЯ И.А.²¹Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»²КУ «Днепропетровская городская детская клиническая больница № 1» Днепропетровского областного совета»

БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

Резюме. В статье обосновано применение симбиотика с целью подавления роста патогенной флоры, улучшения состояния иммунной системы, повышения общей резистентности организма к патогенным инфекциям.

Ключевые слова: симбиотик, диарея, иммунитет, дети.

Введение

Термин «пробиотик» впервые был предложен Daniel M. Lilly и R.H. Stillwell в 1965 году для обозначения лекарственных средств, содержащих культуру микрофлоры человека, которая стимулирует рост комменсальных бактерий кишечника [22]. В рекомендациях ВОЗ (2001) данное понятие получило следующее определение: пробиотик — это живые микроорганизмы или продукты их жизнедеятельности, которые при применении в адекватных количествах полезны для здоровья хозяина [30]. Согласно требованиям Продовольственной и сельскохозяйственной организации при ООН (Food and Agriculture organization of the United Nations — FAO) и ВОЗ (2002), микроорганизмы, входящие в состав пробиотика, должны быть непатогенными и нетоксичными; иметь генетический паспорт и доказательство генетической стабильности (быть чувствительными или иметь природную резистентность к антибиотикам), могли бы выживать в кишечнике; сохранять стабильность состава и жизнедеятельность в течение всего срока хранения; должны состоять из клеток, которые обладают высокой адгезивной и антагонистической способностью к патогенным, условно-патогенным микроорганизмам и не ингибируют нормальную микрофлору кишечника [3–6, 8, 9].

Пробиотические бактерии

В настоящее время на основании результатов многочисленных рандомизированных плацебо-контролируемых сравнительных исследований определена эффективность различных пробиотических средств (табл. 1) при разных клинических ситуациях как у детей, так и у взрослых пациентов [1, 2].

Механизмы действия пробиотических бактерий

Пробиотические бактерии оказывают многочисленные и разнообразные действия на организм человека. На химус, патогенные бактерии, комменсальную микрофлору, энтероциты и иммунокомпетентные клетки пробиотики могут оказывать как прямое, так и не прямое действие, которое обусловлено изменениями в микробном биоценозе кишечника. Считается доказанным их конкурентное взаимодействие с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Некоторые пробиотики оказывают прямое воздействие на слизистую оболочку тонкой кишки, ее трофические и ферментативные резервы [7, 11, 13].

© Абатуров А.Е., Герасименко О.Н., Высочина И.Л., Кривуша Е.Л., Агафонова Е.А., Гирина И.А., Узилевская И.А., 2013

© «Здоровье ребенка», 2013

© Заславский А.Ю., 2013

Разнообразные механизмы местного влияния пробиотических бактерий условно могут быть кластеризованы на три группы: 1) действие на патогенные бактерии; 2) на эпителий слизистой оболочки пищеварительного тракта; 3) действие на неспецифические механизмы защиты и иммунную систему [12, 16, 19, 21, 26].

Основные механизмы действия пробиотических бактерий [26]:

1. *Антимикробная активность:*
 - подавление адгезии патогенной флоры;
 - повышение кислотности в просвете кишечника;
 - продукция бактериоцинов и микроцинов;
 - ингибция бактериальной инвазии.
2. *Улучшение барьерной функции слизистой оболочки кишечника:*
 - увеличение продукции слизи;
 - поддержание целостности молекулярно-клеточного барьера.
3. *Иммунотомуляция:*
 - влияние на эпителиальные клетки;
 - на дендритные клетки;
 - на моноциты/макрофаги;
 - на лимфоциты (Т-, В-лимфоциты, НК-клетки).

Бактерицидное действие пробиотических бактерий

Одним из механизмов пробиотических бактерий, посредством которого они препятствуют колонизации патогенными бактериями, является продукция сероводорода, перекиси водорода и различных кислот (уксусной, молочной, соляной, бензойной), обуславливающих снижение рН в просвете кишечника [32]. Во-вторых, пробиотики, продуцируя антимикробные молекулы, включая короткоцепочечные жирные кислоты, бактериоцины и микроцины, могут непосредственно ингибировать рост бактериальных и грибковых колоний или индуцировать гибель патогенов. Антимикробные вещества, продуцирующие грамположительные бактерии, называют

бактериоцинами, а те, которые продуцируют грамотрицательные бактерии, — микроцинами [15, 17, 26]. Бактериоцины оказывают бактерицидное и бактериостатическое действие на грамположительные и грамотрицательные патогенные бактерии, нарушают синтез бактериальной мембраны и обладают порообразующим действием, а микроцины ингибируют ферменты, участвующие в процессах синтеза функциональных бактериальных протеинов. Изучение бактериоцинов и микроцинов пробиотических бактерий в настоящее время только началось.

Применение пробиотиков сопровождается многонаправленностью клинических эффектов, особенно широкий спектр действия характерен для мультипробиотических средств. Пробиотик Ротабиотик («Кенди ЛТД, Ротафарм лимитед») содержит лиофилизированные бактерии $2,5 \cdot 10^9$ КОЕ: *Lactobacillus acidophilus* — $0,8 \cdot 10^9$ КОЕ; *Lactobacillus bulgaricus* — $0,5 \cdot 10^9$ КОЕ; *Bifidobacterium* ssp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) — $0,4 \cdot 10^9$ КОЕ; *Streptococcus thermophilus* — $0,8 \cdot 10^9$ КОЕ, а также пребиотическое средство — инулин (150,0 мг).

Бактерии, входящие в состав Ротабиотика, оказывают достаточно выраженное бактерицидное действие. Показано, что лактобациллы ингибируют рост различных патогенных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *E.coli*, *Proteus* spp., *Bacillus* spp. и *Salmonella* [33]. Однако различные штаммы лактобацилл имеют свои эффекторные молекулы и определенную селективность своего бактерицидного действия. Так, бактерии *Lactobacillus acidophilus* продуцируют бактериоцин VIII группы ацидоцин, который характеризуется бактерицидным действием на грамотрицательные и грамположительные патогенные микроорганизмы, в том числе и на метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus* (MRSA) и *Clostridium difficile* [17, 20, 24]. Бактерии *Lactobacillus bulgaricus* преимущественно подавляют рост *Escherichia*

Таблица 1. Микроорганизмы, используемые в качестве пробиотиков [18]

<i>Lactobacillus</i> sps.	<i>Bifidobacterium</i> sps.	<i>Streptococcus</i> sps.	<i>Saccharomyces</i> sps.	Другие
<i>L.acidophilus</i>	<i>B.animalis</i>	<i>S.thermophilus</i>	<i>S.boulardii</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L.bulgaricus</i>	<i>B.adolescentis</i>	<i>S.salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>		<i>Escherichia coli</i>
<i>L.casei</i>	<i>B.bifidum</i>			<i>Enterococcus</i>
<i>L.rhamnosus</i>	<i>B.breve</i>			<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L.fermentum</i>	<i>B.longum</i>			
<i>L.gasseri</i>	<i>B.infantis</i>			
<i>L.johnsonii</i>				
<i>L.paracasei</i>				
<i>L.plantarum</i>				
<i>L.reuteri</i>				
<i>L.salivarius</i>				
<i>L.lactis</i>				

coli [10]. *Lactobacillus bulgaricus* продуцирует *in vitro* по крайней мере четыре бактериостатических агента: H_2O_2 , молочную кислоту, термолабильную бактериоциноподобную субстанцию с молекулярной массой 50 кДа, чувствительную к действию протеазы, и термостойкое вещество, которое ингибирует рост *Streptococcus* [27].

Штаммы *Bifidobacterium bifidum* продуцируют различные антимикробные вещества, которые обладают очень широким спектром бактерицидной активности и, по всей вероятности, относятся к 4-му классу бактериоцинов. Одним из наиболее изученных бактериоцинов бактерий *Bifidobacterium bifidum* является бифидоцин [23, 28]. У штаммов бифидобактерий, выделенных из человеческих экскрементов, идентифицирован протеин, который ингибирует *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Staphylococcus aureus* и *Salmonella typhimurium* [27].

Установлено, что *Streptococcus thermophilus* продуцирует бактериоцины, которые умеренно ингибируют рост *Staphylococcus aureus* P310, *Pediococcus acidilactici*, но не проявляют бактерицидную активность в отношении *Listeria innocua* LMG 11387 или *Clostridium tyrobutyricum* LMG 1285 [29, 31].

Таким образом, состав пробиотических бактерий, которые содержатся в Ротабиотике, предотвращает вероятность его антибактериальной активности по отношению как к грамположительной, так и к грамотрицательной патогенной флоре. В связи с этим его применение при острых гастроэнтеритах, вызванных бактериальными патогенами, можно считать патогенетически обоснованным.

Бактерии, которые содержатся в Ротабиотике, продуцируют и другие многочисленные вещества, которые существенно влияют на защиту пищеварительного тракта от условно-патогенных и патогенных бактерий и функционирование врожденной и адаптивной иммунной системы.

Назначение Ротабиотика рекомендуется детям, у которых отмечается повышенный риск развития антибиотик-ассоциированной диареи, больным с острыми и хроническими гастроэнтероколитами, функциональными заболеваниями кишечника.

Ротабиотик назначают детям в возрасте от 3 до 12 лет: по 1 капсуле 3 раза в сутки; детям в возрасте старше 12 лет и взрослым — по 1–2 капсулы 3 раза в сутки через 30 мин после еды, запивая водой. В случаях, когда дети не могут проглотить целую капсулу, ее необходимо раскрыть, содержимое высыпать в ложку и смешать с небольшим количеством воды. Курс — 10–14 дней. При необходимости курс можно повторить, но не ранее чем через 1 мес. Для максимальной эффективности действия Ротабиотика при лечении больных, получающих антибактериальную терапию, интервал между употреблением диетической добавки и приемом антибиотиков должен составлять 3 ч. Противопоказаниями к назначению Ротабиотика являются: повышенная чувствительность к компонентам диетической добавки, гемоколит.

Таким образом, сочетание бактерицидного и иммуностимулирующего действия пробиотических бактерий, входящих в состав Ротабиотика, позволяет рекомендовать его в качестве диетической добавки к рациону питания с целью как подавления роста патогенной флоры, так и восстановления микробиоты кишечника, состояния иммунной системы, повышения общей резистентности организма к патогенным инфекциям.

Список литературы

1. Аряев Н.Л. Клиническое значение пробиотиков в профилактике и лечении антибиотик-ассоциированной диареи у детей / Н.Л. Аряев, Ю.Г. Циунчик, Д.А. Варбанец, Л.Л. Поплавская, И.В. Кузьменко [Текст] // *Здоровье ребенка*. — 2007. — № 4(7).
2. Бережной В.В. Микрофлора человека и роль современных пробиотиков в ее регуляции / В.В. Бережной, С.А. Крамарев, Е.Е. Шунько [Текст] // *Здоровье женщины*. — 2004. — № 1(17). — С. 134–139.
3. Гришель А.И. Пробиотики и их роль в современной медицине / А.И. Гришель, Е.П. Кишкурно [Текст] // *Вестник фармации*. — 2009. — № 1(43). — С. 90–93.
4. Захарова И.Н. Современные пробиотики для коррекции микробиоценоза кишечника у детей / И.Н. Захарова, Л.Н. Мазанкова, Ю.А. Дмитриева [Текст] // *Вопросы современной педиатрии*. — 2009. — Т. 8, № 2. — С. 109–113.
5. Кривуцев Б.И. Дисбактериоз и пробиотики / Б.И. Кривуцев [Текст] // *Здоровье ребенка*. — 2010. — № 3(24).
6. Роль пробиотиков в питании детей грудного возраста. Заключение экспертов по итогам круглого стола (9 декабря 2008 г., Киев) [Текст] // *Здоровье ребенка*. — 2009. — № 3(18).
7. Урсова Н.И. Пробиотики в комплексной коррекции дисбактериоза кишечника у детей / Н.И. Урсова [Текст] // *Лечащий врач: Журнал для профессионалов в медицине*. — 2008. — № 1. — С. 12–14.
8. Учайкин В.Ф. Пробиотики в педиатрии / В.Ф. Учайкин [Текст] // *Детские инфекции*. — 2008. — Т. 7, № 3. — С. 55–56.
9. Хавкин А.И. Пробиотические продукты питания и естественная защитная система организма / А.И. Хавкин [Текст] // *Русский медицинский журнал: Независимое издание для практикующих врачей*. — 2009. — Т. 17, № 4. — С. 241–245.
10. Abedi D. *In vitro* anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on *Escherichia coli* / D. Abedi, S. Feizjzadeh, V. Akbari, A. Jafarian-Dehkordi [Text] // *Res. Pharm. Sci.* — 2013 Oct. — 8(4). — 260–8.
11. Angelakis E. Related actions of probiotics and antibiotics on gut microbiota and weight modification / E. Angelakis, V. Merhej, D. Raoult [Text] // *Lancet Infect. Dis.* — 2013 Oct. — 13(10). — 889–99; doi: 10.1016/S1473-3099(13)70179-8.
12. Bermudez-Brito M. Probiotic mechanisms of action / M. Bermudez-Brito, J. Plaza-Diaz, S. Munoz-Quezada, C. Gomez-Llorente, A. Gil [Text] // *Ann. Nutr. Metab.* — 2012. — 61(2). — 160–74; doi: 10.1159/000342079.
13. Ciccarelli S. Management strategies in the treatment of neonatal and pediatric gastroenteritis / S. Ciccarelli, I. Stolfi, G. Caramia [Text] // *Infect. Drug Resist.* — 2013, Oct 29. — 6. — 133–161; doi: 10.2147/IDR.S12718.
14. Cotter P.D. Bacteriocins: developing innate immunity for food / P.D. Cotter, C. Hill, R.P. Ross [Text] // *Nat. Rev. Microbiol.* — 2005 Oct. — 3(10). — 777–88; doi: 10.1038/nrmicro1273.
15. Desriac F. Bacteriocin as weapons in the marine animal-associated bacteria warfare: inventory and potential applications as an aquaculture probiotic / F. Desriac, D. Defser, N. Bourgougnon, B. Brillet, P. Le Chevalier, Y. Fleury [Text] // *Mar. Drugs*. — 2010, Apr 4. — 8(4). — 1153–77; doi: 10.3390/md8041153.
16. Dongarra M.L. Mucosal immunology and probiotics / M.L. Dongarra, V. Rizzello, L. Muccio, W. Fries, A. Cascio, I. Bonaccorsi, G. Ferlazzo [Text] // *Curr. Allergy Asthma Rep.* — 2013 Feb. — 13(1). — 19–26; doi: 10.1007/s11882-012-0313-0.
17. Gillor O. The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics / O. Gillor, A. Etzion, M.A. Riley [Text] // *Appl. Microbiol. Bio-*

technol. — 2008 Dec. — 81(4). — 591-606; doi: 10.1007/s00253-008-1726-5.

18. Gupta V. Probiotics / V. Gupta, R. Garg [Text] // *Indian J. Med. Microbiol.* — 2009 Jul-Sep. — 27(3). — 202-9; doi: 10.4103/0255-0857.53201.

19. Hoffmann D.E. Science and regulation. Probiotics: finding the right regulatory balance / D.E. Hoffmann, C.M. Fraser, F.B. Palumbo, J. Ravel, K. Rothenberg, V. Rowthorn, J. Schwartz [Text] // *Science.* — 2013, Oct 18. — 342(6156). — 314-5; doi: 10.1126/science.1244656.

20. Karska-Wysocki B. Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) / B. Karska-Wysocki, M. Bazo, W. Smoragiewicz [Text] // *Microbiol. Res.* — 2010, Oct 20. — 165(8). — 674-86; doi: 10.1016/j.micres.2009.11.008.

21. Landy J. Commentary: the effects of probiotics on barrier function and mucosal pouch microbiota during maintenance treatment for severe pouchitis in patients with ulcerative colitis / J. Landy, A. Hart [Text] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* — 2013 Dec. — 38(11-12). — 1405-6; doi: 10.1111/apt.12517.

22. Lilly D.M. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms / D.M. Lilly, R.H. Stillwell [Text] // *Science.* — 1965, Feb 12. — 147(3659). — 747-8; doi: 10.1126/science.147.3659.747

23. Martinez F.A. Bacteriocin production by *Bifidobacterium* spp. A review / F.A. Martinez, E.M. Balciunas, A. Converti, P.D. Cotter, R.P. de Souza Oliveira [Text] // *Biotechnol. Adv.* — 2013 Jul. — 31(4). — 482-8; doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.01.010.

24. Mkrtchyan H. Purification, characterisation and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain Narine / H. Mkrtchyan, S. Gibbons, S. Heideberger, M. Zloh, H.K. Limaki [Text] // *Int. J. Antimicrob. Agents.* — 2010 Mar. — 35(3). — 255-60; doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.11.017.

25. Munoz-Atienza E. Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of Lactic Acid Bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture / E. Munoz-Atienza,

B. Gomez-Sala, C. Araujo, C. Campanero, R. del Campo, P.E. Hernandez, C. Herranz, L.M. Cintas [Text] // *BMC Microbiol.* — 2013, Jan 24. — 13. — 15; doi: 10.1186/1471-2180-13-15.

26. Ng S.C. Mechanisms of action of probiotics: recent advances / S.C. Ng, A.L. Hart, M.A. Kamm, A.J. Stagg, S.C. Knight [Text] // *Inflamm. Bowel Dis.* — 2009. — Vol. 15, № 2. — P. 300-310; doi: 10.1002/ibd.20602.

27. Ohland C.L. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function / C.L. Ohland, W.K. Macnaughton [Text] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* — 2010. — Vol. 298, № 6. — P. G807-G819; doi: 10.1152/ajpgi.00243.2009.

28. Poltavska O.A. Antimicrobial activity of bifidobacterial bacteriocin-like substances / O.A. Poltavska, N.K. Kovalenko [Text] // *Mikrobiol. Z.* — 2012 Sep-Oct. — 74(5). — 32-42.

29. Renye J.A. Jr. BlpC-regulated bacteriocin production in *Streptococcus thermophilus* / J.A. Renye Jr, G.A. Somkuti [Text] // *Biotechnol. Lett.* — 2013 Mar. — 35(3). — 407-12; doi: 10.1007/s10529-012-1095-0.

30. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria (October 2001).

31. Rossi F. Diversity of *Streptococcus thermophilus* in bacteriocin production; inhibitory spectrum and occurrence of thermophilin genes / F. Rossi, M. Marzotto, S. Cremonese, L. Rizzotti, S. Torriani [Text] // *Food Microbiol.* — 2013 Aug. — 35(1). — 27-33; doi: 10.1016/j.fm.2013.02.006.

32. Servin A.L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens / A.L. Servin [Text] // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2004 Oct. — 28(4). — 405-40. PMID: 15374659.

33. Veera Jothi V. Bacteriocin production by probiotic bacteria from curd and its field application to poultry / V. Veera Jothi, K.T.K. Anandapandian, T. Shankar [Text] // *Archives of Applied Science Research.* — 2012. — 4(1). — 336-347.

Получено 15.11.13 □

Абатуров О.Є.¹, Герасименко О.М.¹, Височина І.Л.¹,
Кривуша О.Л.¹, Агафонова О.О.¹, Гіріна І.О.²,
Узілевська І.А.²

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

²КЗ «Дніпропетровська міська дитяча клінічна лікарня № 1» Дніпропетровської обласної ради

БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИЧНИХ ЗАСОБІВ

Резюме. У статті обумовлене застосування симбіотики з метою пригнічення росту патогенної флори, покращення стану імунної системи, підвищення загальної резистентності організму до патогенних інфекцій.

Ключові слова: симбіотик, діарея, імунітет, діти.

Abaturov A.Ye.¹, Gerasimenko O.N.¹, Vysochina I.L.¹,
Krivusha Ye.L.¹, Agafonova Ye.A.¹, Girina I.A.²,
Uzilevskaya I.A.²

¹State Institution «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Healthcare of Ukraine»

²Municipal Institution «Dnipropetrovsk City Children's Clinical Hospital № 1» of Dnipropetrovsk Regional Council

BACTERICIDAL ACTIVITY OF PROBIOTIC AGENTS

Summary. The article grounds the symbiotic drugs to inhibit the growth of pathogenic flora, to improve immune status, to enhance the general resistance of the organism to the pathogenic contagions.

Key words: symbiotic bacteria, diarrhea, immunity, children.