

Л.В.Дячишина

ДЕКОНТАМІНУЮЧА ТА КОРИГУВАЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ БІФІФОРМУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ДИСБАКТЕРІОЗИ

Кафедра клінічної імунології, алергології та ендокринології (зав. - проф. І.Й. Сидорчук)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Вивчено деконтамінуючу та коригувальну ефективність біфіформу на порожнинну мікрофлору товстої кишки білих щурів, які зазнали дії оксалату натрію (2,18 мг/кг 1/500 DL₅₀), внаслідок внутрішньошлункового введення ксенобіотика. Біфіформ сприяє заселенню кишечника автохтонними облигатними мікроорганізмами і зростанню їх популяційного рівня та мікроекологічних показників, але не призводить до селективної деконтамінації дріжджоподібних грибів роду *Candida*, внаслідок чого останні контамінують порожнину товстої кишки у помірному популяційному рівні.

Ключові слова: товста кишка, порожнинна мікрофлора, оксалат натрію, біфіформ.

Вступ. Для корекції мікрофлори кишечника використовують бактеріальні препарати, які містять у собі життєздатні антагоністично активні, автохтонні облигатні для людини бактерії, здатні адгезуватися на епітеліоцитах та колонізувати слизову оболонку шлунково-кишкового тракту.

В основу лікування кишкового дисбактеріозу покладена бактеріотерапія, за допомогою якої досягається селективна деконтамінація патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, а також корекція автохтонної облигатної мікрофлори кишечника [3,5].

Вибір між антибіотикотерапією і бактеріотерапією залежить від чутливості алохтонної мікрофлори до антибіотика та антагоністичної активності пробіотика. В останні роки практичні лікарі надають перевагу бактеріотерапії, завдяки якій можлива корекція автохтонної облигатної мікрофлори. Ми зупинили свою увагу на новому бактерійному препараті біфіформ [12] данської фірми "Ferrosan", який надійшов на фармацевтичний ринок України в 1998 році.

Мета дослідження. Вивчити деконтамінуючу та корегувальну ефективність біфіформу на видовий склад та популяційний рівень мікрофлори порожнини товстої кишки за дії оксалату натрію.

Матеріал і методи. Експерименти проведено на 46 білих безпородних щурах обох статей масою 0,15 – 0,18 кг.

У першій серії тварин (n=7) внутрішньошлунково металевим зондом вводили оксалат натрію в дозі 2,18 мг/кг (1/500 DL₅₀) в 1 мл протягом 7 днів. У другій серії (n=7) - на фоні сформованого вищевказаним ксенобіотиком дисбактеріозу [6], проводили корекцію біфіформом по 1 капсулі щоденно протягом 10 днів. Тварини третьої серії (контроль, n=32) отримували розчинник препарату (стерильна дистильована вода) в об'ємі 1 мл.

Бактерійний препарат біфіформ ("Ferrosan") являє собою завись *Bifidobacterium longum* – не менше 10⁷ та *Enterococcus faecium* - не менше 10⁷.

Виділення та ідентифікацію автохтонних облигатних анаеробних аспорогенних та спорогенних бактерій здійснювали в стаціонарному анаеростаті – "CO₂-incubator T-125" (шведська фірма ASSAB Medicin AB) за відомими методами [9,10].

Аеробні автохтонні облигатні та факультативні мікроорганізми вирощували на селективних середовищах у термостаті за оптимальними температурними режимами, ідентифікацію їх проводили за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями та за антигенною структурою в реакціях аглютинації. В окремих випадках для ідентифікації анаеробних бактерій використовували системи API-20A, аеробних – API-20 Staph., API-20E, Ентеротест 1,2 [3,10].

Екологічний стан мікробіоценозу порожнини товстої кишки оцінювали за індексом сталості (С%), показниками частоти виявлення (Р), значущості (С), коефіцієнта кількісного домінування (КД) [2, 7, 11].

Ступінь кишкового дисбактеріозу оцінювали за [4].

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали загальноновизнаними методами варіаційної статистики із застосуванням критерію достовірності відмінностей Стьюдента за спеціальними програмами [1].

Результати дослідження та їх обговорення. За даними табл. 1, в інтактних білих щурів мікрофлора вмісту порожнини товстої кишки представлена бактероїдами, ешерихіями, біфідобактеріями, лактобактеріями, ентерококами, еубактеріями. До константних мікроорганізмів цього біотопу відносяться фузобактерії, стафілококи та протеї. Превотели, клостридії, пептокок, пептострептококи трапляються у вмісті порожнини товстої кишки зрідка.

Натрій щавлевокислий призводить до елімінації біфідобактерій, еубактерій та зниження індексу сталості й показника частоти виявлення у превотел, лактобактерій, фузобактерій та ентерококів. Ці показники зростають у клостридій, пептокока, пептострептококів, ентеробактерій (клебсіел, протеїв) та стафілококів. На фоні змін видового складу мікрофлори порожнини товстої кишки настає контамінація цього біотопу ентеропатогенними ешерихіями (*E. coli* H₂S⁺) та дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Біфіформ призводить до появи та персистенції біфідобактерій, лактобактерій у всіх експериментальних тварин з явищами дисбактеріозу. З іншого боку, аплікація біфіформу сприяє елімінації з порожнини товстої кишки пептострептококів, патогенних гемолітичних ешерихій та інших умовно патогенних ентеробактерій (клебсіел, протеїв) та у 4 із 7 тварин - стафілококів. У частини тварин настає деконтамінація пептокока, клостридіальних форм бактерій, зростає індекс сталості в ентерококів.

Наступним етапом вивчення терапевтичної ефективності біфіформу стало встановлення його впливу на популяційний рівень та мікроекологічні показники мікрофлори порожнини товстої кишки білих щурів, які зазнали дії ксенобіотика.

Вживання біфіформу (табл.2) призводить до деконтамінації патогенних та умовно патогенних ентеробактерій, значного зниження популяційного рівня стафілококів, пептокока, клостридій. Водночас він сприяє значному зростанню популяційного рівня та мікроекологічних показників облігатних автолактобактерій, біфідобактерій, еубактерій, ентерококів.

Не змінюється популяційний рівень у бактероїдів і превотел та мікроекологічні показники у превотел і кишкових паличок.

Таким чином, використання бактерійного препарату біфіформу з метою селективної деконтамінації алохтонних мікроорганізмів, які формують кишковий дисбактеріоз за дії оксалату натрію та корекції автохтонної облігатної мікрофлори порожнини товстої кишки показало, що цей препарат призводить до елімінації з порожнини товстої кишки експериментальних тварин алохтонних патогенних ешерихій (*E. coli* H₂S⁺), умовно патогенних ентеробактерій, стафілококів, пептострептококів, пептокока, клостридій та заселення порожнини товстої кишки автохтонними облігатними біфідобактеріями, лактобактеріями, ентерококами, еубактеріями, популяційний рівень та мікроекологічні показники яких значно зростають.

Однак при використанні біфіформу зростає індекс сталості, популяційний рівень та інші мікроекологічні показники дріжджоподібних грибів роду *Candida*. Тобто біфіформ сприяє контамінації порожнини товстої кишки цими мікроорганізмами та зростанню їх популяційного рівня. Можливо, це пов'язано з кандидагенною дією біфіформу, що потребує додаткових досліджень.

Висновки.

1. Мікрофлора порожнини товстої кишки за дії внутрішньошлункового введення оксалату натрію характеризується повною елімінацією біфідобактерій, еубактерій, зменшенням кількості лактобактерій, ентерококів, зростанням популяційного рівня стафілококів, кишкових паличок, протеїв.

2. Біфіформ проявляє ефективну селективну деконтамінацію алохтонних патогенних (*E. coli* H₂S⁺) та умовно патогенних ентеробактерій (протеїв, клебсіел), стафілококів, пептострептококів, пептокока, клостридій.

3. Біфіформ сприяє нормалізації мікрофлори порожнини товстої кишки, яка зазнала дії оксалату натрію, за рахунок заселення цього біотопу автохтонними облігатними мікроорганізмами – біфідобактеріями, лактобактеріями, еубактеріями, ентерококами.

4. Біфіформ сприяє контамінації порожнини товстої кишки дріжджоподібними грибами роду *Candida*, які досягають помірного популяційного рівня.

Таблиця 1

Вплив біфіформу на видовий склад мікрофлори порожнини товстої кишки шурів на фоні дисбактеріозу, викликаному оксалатом натрію

Мікроорганізми	Мікроекологічні показники	Вихідні показники мікрофлори в нормі (n=32)	Вихідні показники мікрофлори при дисбактеріозі (n=7)	Після бактеріотерапії біфіформом (n=7)
I. Анаеробні бактерії				
Біфидобактерії	n	31	0	7
	C%	96,88	0	100,0
	P _i	0,11	0	0,15
Лактобактерії	n	30	3	7
	C%	93,75	42,86	100,0
	P _i	0,10	0,05	0,15
Бактероїди	n	32	7	7
	C%	100,0	100,0	100,0
	P _i	0,12	0,11	0,15
Превотели	n	14	2	2
	C%	43,75	28,57	28,57
	P _i	0,05	0,03	0,04
Еубактерії	n	27	0	2
	C%	84,37	0	28,57
	P _i	0,10	0	0,04
Фузобактерії	n	17	1	0
	C%	53,13	14,29	0
	P _i	0,06	0,02	0
Клостридії	n	7	5	1
	C%	21,88	71,43	14,29
	P _i	0,03	0,08	0,02
Пептокок	n	13	5	2
	C%	40,63	71,43	28,57
	P _i	0,05	0,08	0,04
Пептострептококи	n	4	4	0
	C%	12,50	57,14	0
	P _i	0,01	0,07	0
II. Аеробні бактерії				
Мікроорганізми	Мікроекологічні показники	Вихідні показники мікрофлори в нормі (n=32)	Вихідні показники мікрофлори при дисбактеріозі (n=7)	Після бактеріотерапії біфіформом (n=7)
Кишкові палички	n	32	7	7
	C%	100,0	100,0	100,0
	P _i	0,12	0,11	0,15
E. coli NLy ⁺	n	0	4	0
	C%	0	57,14	0
	P _i	0	0,07	0
Клебсієли	n	0	4	0
	C%	0	57,14	0
	P _i	0	0,07	0
Протеї	n	16	7	0
	C%	50,0	100,0	0
	P _i	0,06	0,11	0
Ентерококи	33 n	28	3	5
	C%	87,5	42,86	71,43
	P _i	0,10	0,05	0,10
Стафілококи	n	21	7	3
	C%	65,63	100,0	42,86
	P _i	0,08	0,11	0,06
Дріжджоподібні гриби роду Candida	n	0	2	5
	C%	0	28,57	71,43
	P _i	0	0,03	0,10

Примітки: n – кількість тварин; C% - індекс сталості; P_i - показник частоти виявлення.

Вплив біфіформу на популяційний рівень мікрофлори порожнини товстої кишки щурів на фоні дисбактеріозу, викликаному оксалатом натрію

Мікроорганізми	Мікроекологічні показники	Вихідні показники мікрофлори в нормі (n=32)	Вихідні показники мікрофлори при дисбактеріозі (n=7)	Після бактеріотерапії біфіформом (n=7)
I. Анаеробні бактерії				
Біфідобактерії	M±m	8,88±0,31	0	7,99±0,17 ***
	C	12,65	0	16,13
	КД	111,44	0	107,54
Лактобактерії	M±m	9,56±0,37	4,87±0,31	9,17±0,14 ***
	C	12,38	3,13	18,51
	КД	116,09	26,79	123,42
Бактероїди	M±m	10,15±0,41	9,98±0,27	10,03±0,21
	C	15,78	14,09	20,25
	КД	131,48	128,11	134,50
Превотели	M±m	9,89±0,29	9,17±0,41	9,08±0,24
	C	6,41	3,53	4,89
	КД	56,05	33,63	34,91
Еубактерії	M±m	9,47±0,33	0	9,17±0,27
	C	12,27	0	4,94
	КД	103,45	0	35,26
Фузобактерії	M±m	8,77±0,28	7,41	0
	C	6,82	1,90	0
	КД	60,36	13,59	0
Клостридії	M±m	3,01±0,21	7,07±0,28	4,17 ***
	C	1,17	7,26	1,12
	КД	8,53	34,83	8,02
Пептокок	M±m	9,31±0,26	9,01±0,36	7,31±0,12
	C	6,03	9,25	3,94
	КД	48,47	82,62	28,11
Пептострептококи	M±m	9,07±0,26	8,81±0,41	0
	C	1,17	7,92	0
	КД	14,29	64,62	0
II. Аеробні мікроорганізми				
Кишкові палички	M±m	4,72±0,27	5,73±0,21	4,79±0,11 **
	C	7,34	8,09	9,67
	КД	61,14	73,56	64,47
E. coli NLy ⁺	M±m	0	8,75±0,30	0
	C	0	7,89	0
	КД	0	64,40	0
Клебсієли	M±m	0	7,91±0,21	0
	C	0	7,11	0
	КД	0	58,02	0
Протеї	M±m	4,02±0,05	9,18±0,19	0
	C	3,12	12,96	0
	КД	26,04	117,84	0
Ентерококи	M±m	8,09±0,17	6,96±0,32	9,03±0,47 **
	C	10,48	4,47	12,15
	КД	91,64	38,29	86,81
Стафілококи	M±m	5,37±0,19	8,93±0,29	4,19±0,18 ***
	C	5,56	12,61	3,38
	КД	45,65	114,63	24,17
Дріжджоподібні гриби роду Candida	M±m	0	5,26±0,17	6,83±0,16 ***
	C	0	2,03	9,19
	КД	0	19,29	65,66

Примітки: n – кількість тварин; C – показник значущості, КД – показник кількісного домінування; вірогідність між вказаними групами
 ** - p < 0,01, *** - p < 0,001 (наведені тільки статистично вірогідні відмінності).

Література. 1. *Ашмарин И.П.* Быстрые методы статистической обработки и планирования экспериментов. Изд. 2-е Л.: Изд-во Ленинградского госуниверситета. - 1975. - С. 78-85. 2. *Экология. Особи, популяції, сообщества: В 2-х т. /Пер. с англ. М. Бигон, Дж.Харпер, К.Таунсенд. Под ред. А.М.Гилярова.* - М.: Мир, 1998. - С. 667-672. 3. *Бондаренко А.В., Бондаренко В.М., Бондаренко В.М.* Пути совершенствования этиопатогенетической терапии дисбактериозов // Журн. микробиол. - 1998. - № 5. - С. 96-101. 4. *Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А., Воробьев А.А.* Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 1999. - № 1. - С. 66-70. 5. *Бондаренко В.М., Рубакова Э.И., Лаврова В.А.* Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков // Журн. микробиол. - 1998. - № 5. - С. 107-112. 6. *Дячишина Л.В.* Вплив різних доз оксалату натрію на видовий склад та популяційний рівень мікрофлори порожнини товстої кишки в експерименті // Буковинський медичний вісник. - 1999. - №3. - С.187-195. 7. *Климчук С.І.* Мікробна екологія шкіри людини в різні вікові періоди в нормі та при патології: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. - Київ, 1995. - 47с. 8. *Микельсаар М.Э., Сийгур У.Х., Ленцнер А.А.* Оценка количественного состава микрофлоры фекалий // Лаб. дело. - 1990. - № 3. - С.62-66. 9. *Нормальная микрофлора кишечника. Диагностика, профилактика и лечение дисбактериозов кишечника. Пособие для врачей и студентов.* - Москва, 1997. - 47 с. 10. *Одум Ю.* Экология: В 2-х т. /Пер. с англ. Ю.М.Фролова; Под ред. В.Е.Соколова. - М.: Мир, 1986. - 740 с. 11. *Определитель бактерий Берджи.* В 2-х т./Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снейя и др. - 9-е изд. - М.: Мир, 1997. - 800 с. 12. *Сидорчук І.Й., Коваль Г.Д.* Антагоністична активність біфіформа // Буковинський медичний вісник. - 2000. - №2. - С. 211-218.

DECONTAMINATING AND CORRECTING EFFICIENCY OF BIFIFORM IN EXPERIMENTAL DYSBACTERIOSIS DUE TO INTRAGASTRAL ENTRY OF POTASSIUM OXALATE

L.V.Diachyshyna

Abstract. We have studied the decontaminating and correcting efficiency of bifiform on the cavity microflora of the large intestine of albino rats which underwent the action of potassium oxalate (2,18 mg/kg 1/500 DL₅₀) due to the intragastric entry of a xenobiotic. Bifiform favours populating the intestine by autochthonous obligate microorganisms and an increase of their population level and microecologic indices. Moreover, it doesn't cause selective decontamination of yeast like fungi of the Candida type, the latter contaminating the cavity of the large intestine at a moderate population level.

Key words: large intestine, cavity microflora, potassium oxalate, bifiform.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 16.10.2000 року