

ОГЛЯДИ ТА ЛЕКЦІЇ

34. Rondon M.R., Goodman R.M., Handelsman J. The Earth's bounty: assessing and accessing soil microbial diversity // Trends Biotechnol. – 1999. – V. 17. – P. 403-409.

35. Host-bacterial mutualism in the human intestine / Backhed F., Ley R.E., Sonnenburg J.L. et al. // Science. – 2005. – V. 307. – P. 1915-1920.

ROLE OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS IN SUPPORTING HUMAN HEALTH

S.M. Zakharenko

SUMMARY. Modern notions about interrelations between microorganisms and human allow to represent us as some superorganism – peculiar

fusion of microorganic cells and our cells and survival of both the first and the second ones are closely connected. New directions of study of this «superorganism» – metagenom, metabolom, proteom – allow to revise the accumulated information in a new way and to obtain extensive data which, probably, can reveal the principles being the basis of important for us organism-microbial and microbial-microbial relationships, including the notions about penetration and functioning of infectious agents within our microbial groups.

Key words: intestinal microbiocenosis, microbial groups, human health.

© Копча В.С., 2009
УДК 615.28/.33

В.С. Копча

ΑΙ ΟΕΑ²Ι ΟΕΕ¹ ΔΑÇÈÑÒÁÍ ÒÍ ²ÑÒÙ Ì ÐÎ Α²Ι ΟΕΕ²Α: ÐÎ ÇΑΟÌ È ² ÔÀÊÒÈ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

*Значна частина пробіотиків не може застосовуватися паралельно з антибактерійною терапією, оскільки бактерійні штами цих препаратів гинуть під впливом антибіотиків. У той же час забезпечення мікроорганізмів набутою антибіотикорезистентністю може суперечити вимогам лікарської безпеки, адже гени, відповідальні за цю особливість, можуть бути передані патогенним мікробам в організмі пацієнта. Тому з-поміж аналізованих терапевтичних середників вигідно вирізняються препарати, пробіотичні штами яких володіють природною поліантибіотикорезистентністю. Класичним представником таких пробіотиків є біоентеросептик ентерол-250, що містить дріжджові гриби *Saccharomyces boulardii*.*

Ключові слова: пробіотики, антибіотикорезистентність, біоентеросептики.

Травний канал людини є місцем існування понад 400 видів патогенних і непатогенних бактерій, що становлять близько 95 % від загальної

кількості клітин людського організму і перебувають у комплексній взаємодії [1, 2].

Протягом багатьох десятиріч основну увагу дослідників привертало патогенні мікроорганізми, що відіграють важливу роль в етіології різних захворювань. Інтенсивні клінічні дослідження корисних мікроорганізмів (пробіотиків) почалися лише в 1990-ті рр., хоча самій ідеї використання непатогенних бактерій у терапевтичних цілях вже близько 100 років, а перші комерційні препарати пробіотиків з'явилися ще в середині минулого століття. Останніми роками пробіотики викликають не менший, якщо не більший, інтерес, ніж патогенні бактерії. Це пов'язано, з одного боку, із сучасним станом антибіотикорезистентності, що обумовлює пошук альтернативних антибіотикам більш фізіологічних і безпечних засобів для профілактики і лікування інфекцій, з другого – розробкою нових біотехнологій, що дозволяють створювати активні та безпечні бактерійні препарати.

Нині пробіотикам відводять важливе місце не тільки в контролі мікробної резистентності [3], але й як стратегічним засобам альтернативної медицини, спрямованої на підтримку та відновлення здоров'я людини [4].

Використання пробіотиків може:

- впливати на протиінфекційні захисні механізми;
- забезпечувати імуномодулювальну дію;
- поліпшувати бар'єрні функції;
- нормалізувати метаболічні процеси;
- змінювати моторику і функціональний стан кишечника.

Ретельне вивчення в експериментальних і клінічних умовах демонструвало певні ефекти пробіотиків, але ефективність і відтворюваність лікувальної дії з використанням багатьох пробіотиків підтверджені ще недостатньо.

Так, з метою профілактики побічних явищ з боку травного каналу, спричинених антибіотикотерапією, пацієнтам досить часто призначають бактерійні пробіотики. Зараз поширена думка про те, що при прийомі всередину великих кількостей мікроорганізмів, наприклад *Lactobacillus* або *Bifidobacterium*, чи бактерійних спор (мікроорганізмів виду *Bacillus*) мікрофлора кишечника, порушена під дією антибіотиків, може відновитися [5].

Однак, як показали результати численних експериментальних і клінічних спостережень, спричинити тривалі якісні й кількісні зміни мікрофлори кишечника дорослої імунокомпетентної людини важко. Навіть використання пробіотиків зазвичай не приводить до стійкої зміни того чи іншого мікробіологічного показника. В експериментах введення бактерій вело до зміни складу мікрофлори на короткий час, але первинний склад незабаром відновлювався. Легше піддається зміні мікрофлора у дітей на етапі неонатальної колонізації, в яких склад мікрофлори простіший, ніж у дорослих.

Недостатня ефективність багатьох пробіотиків зумовлена інактивацією діючої субстанції препарату під впливом кислотного (у шлунку), жовчного (в дванадцятипалій кишці) і ферментативного бар'єрів (усі відділи тонкої кишки). Але і після досягнення пробіотичним мікроорганізмом товстої кишки колонізація відбувається не завжди. У товстій кишці пробіотичну культуру можуть «недружно» зустріти, по-перше, опортуністична мікробіота, по-друге, резидентна нормобіота пацієнта, по-третє, його місцева імунна система. Антагонізм

між нормобіотою та опортуністичною мікрофлорою, як відомо, формується внаслідок виділення антимікробних пептидів, конкуренції за джерела живлення і місця адгезії в товстій кишці.

На цих же механізмах, мабуть, заснований ефект біонесумісності резидентної і пробіотичної мікробіоти. Згідно з даними Н.А. Глушанової та А.І. Блінова (2005), з 24 штамів резидентних лактобацил тільки 6 виявилися біосумісними з пробіотичним штамом *L. acidophilus* 317/402 і ще 9 – з *L. plantarum* 8PA3. Не виявлено жодного резидентного штаму, одночасно біосумісного як з *L. acidophilus* 317/402, так і з *L. plantarum* 8PA3. Біонесумісність пробіотичних і резидентних лактобацил проявлялася розвитком реакції двох типів: «резидентний штам проти пробіотика» і «пробіотик проти резидентного штаму» [6].

Як подолати зазначені перешкоди? При надмірному рості опортуністичної мікробіоти для досягнення клінічного ефекту пробіотичного препарату необхідна попередня або одночасна селективна деконтамінація кишечника. З цією метою традиційно використовують біологічні або синтетичні ентеросептики.

Проблема використання пробіотиків залежить як від їх клінічної ефективності, так і безпеки. Багато виробників пробіотичних продуктів декларують їх антибіотикорезистентність, закликаючи тим самим призначати пробіотик як частину «сервіс-терапії» при проведенні антибактерійної терапії. У той же час антибіотикорезистентність пробіотичного штаму може суперечити вимогам лікарської безпеки. Необхідно пам'ятати, що у деяких пацієнтів пробіотичний штам іноді стає збудником інфекції. Були випадки, коли пробіотичні лактобацили викликали бактеріємію у хворих з вираженими імунодефіцитними станами. Цим пацієнтам була необхідна антибіотикотерапія (імпіпеномом, піперацилін-тазобактамом, еритроміцином або кліндаміцином), проте смертність при сепсисі, спричиненому лактобацилами, досягла 39 % [7].

Додамо: у пацієнтів з лактазною недостатністю та алергією до молока можливі небажані явища як відповідь на недостатньо добре «очищений» від компонентів виробничого середовища пробіотик.

Одним з віддалених наслідків терапії, якому донедавна приділяли мало уваги, є розповсюдження генів антибіотикорезистентності серед патогенних мікроорганізмів.

Значна частина пробіотиків чутлива до більшості антибіотиків. Відомості літератури [8, 9]

ОГЛЯДИ ТА ЛЕКЦІЇ

свідчать про те, що *Lactobacilli*, *Enterococci*, *Bacillus cereus* і *Bifidobacteria* не є резистентними до таких повсюдно використовуваних антибіотиків, як амоксицилін, доксициклін, фторхінолони і цефалоспорицини. Це суттєвий недолік бактерійних препаратів, що дуже обмежує їх використання, адже їх поєднання з антибіотикотерапією або застосування безпосередньо після неї неминуче супроводжується інактивацією штамів таких пробіотиків. Тому було запропоновано використовувати антибіотикорезистентні штами мікроорганізмів. Полірезистентні пробіотики можуть застосовуватися одночасно з антибіотиками для профілактики виникнення побічних явищ з боку травного каналу, спричинених пероральними антибіотиками.

Проте такий підхід має ряд недоліків. Передусім у такому випадку існує ризик плазмідної передачі патогенам резистентності до антибіотиків [10]. Було продемонстроване перенесення плазмід із *Lactobacillus reuteri* на *Enterococcus faecium*, а також з *E. faecium* на *E. faecalis* у процесі приготування м'ясомолочної продукції [11]. Інфікування *E. faecium* становить серйозну небезпеку, тому що у багатьох штамів цієї бактерії є плазмиди, які кодують резистентність до різноманітних антибіотиків, включаючи ванкоміцин [10]. Ці знахідки насторожують і вимагають контролю за культурами стартерів молочнокислих бактерій, використовуваних для виробництва продуктів харчування, на відсутність мобільних генетичних елементів, які включають гени антибіотикорезистентності.

Через небезпеку існування резистентності ентерококів до ванкоміцину, що може передаватися іншим мультирезистентним бактеріям, використання відповідних пробіотиків рекомендується обмежити [12-14]. У Бельгії в 1994 р. був вилучений з продажу пробіотик, до складу якого входив ентерокок (*Enterococcus faecium* SF 68).

Зазначена «штучна», або набута, резистентність може виникати в результаті дії двох різних механізмів: мутацій у конституціональних генах (генах «домашнього господарства» – *housekeeping genes*; у цьому випадку передача гена резистентності теоретично відбуватися не може), а також набуття екзогенних детермінант резистентності від інших мікроорганізмів шляхом згаданого вже горизонтального перенесення плазмід антибіотикорезистентності [15, 16]. У такому випадку можлива подальша передача гена резистентності від пробіотика до мікроорганізмів, патогенних для людини як безпосередньо, так і опосередковано через коменсальну мікрофлору. Таке явище отри-

мало назву генетичного забруднення детермінантами резистентності [17].

Так, недавно при вивченні 187 культур, виділених з різних йогуртів, що виробляються у 8 країнах Європейського Союзу, була знайдена стійкість до канаміцину у 79 % ізолятів, до ванкоміцину – у 65 %, до тетрацикліну – у 26 %, пеніциліну – у 23 %, еритроміцину – у 16 % і хлорамфеніколу – в 11 %. При цьому велика частина культур (68,4 %) характеризувалася множинною медикаментозною стійкістю [18].

У природних умовах існує три рівні розповсюдження генів антибіотикорезистентності: бактерійна епідемія, при якій резистентністю володіє початковий штам; плазмідна епідемія, якщо гени резистентності розташовані в кон'югативних плазмідах; генна епідемія, коли гени є частиною мобільного (рухомого) генетичного елемента. В останньому випадку, оскільки цей елемент може вбудовуватися в хромосому хазяїна або кон'югативну плазмиду, генетична інформація може успадковуватися як вертикально, так і горизонтально. У природі ці три рівні розповсюдження генів резистентності можуть навіть поєднуватися один з одним.

Вважають, що можливість розповсюдження генів резистентності достатньо висока тільки у разі перенесення мобільного генетичного елемента (плазмиди чи транспозона) і майже відсутня, якщо ген резистентності є хромосомним. Однак деякі хромосомні гени усе ж успішно переносяться *in vivo* [19, 20].

Серйозних доказів авірулентності вимагають штами ентерококів та ешерихій, серед яких трапляються патогенні варіанти. Авірулентність пробіотичного штаму *E. coli* M-17, використовуваного в колишньому СРСР з середини 50-х років ХХ століття у складі препарату «Колібактерин», показана тільки на основі фенотипних властивостей та нешкідливості на лабораторних тваринах і добровольцях. Штам *Enterococcus faecium* SF68 був виділений і запатентований S.A. Giuliani (Patent № 1.112.479). На основі цього штаму були створені препарати «Bioflorin» і «Iodoform» (аналог «Біфіформу»), широко використовувані в Західній Європі. Штам *Enterococcus faecium* SF68 входить до складу пробіотиків «Біфіформ» і «Лінекс».

Що ж нині викликає турботу дослідників щодо «патогенізації» ентерококів і кишкових паличок? Це – наявність недавно виявлених у ряду збудників бактерійних інфекцій вже згаданих геномних «островів» патогенності. Доведено, що інте-

грація, стабілізація та експресія генів вірулентності, які входять до складу островів патогенності, лежать в основі формування нових властивостей, у тому числі вірулентних, у споріднених непатогенних видів бактерій різних таксономічних груп [21].

Поряд з набутою існує ще й принципово інший тип бактерійної антибіотикорезистентності – істинна (природна, або первинна) [22]. Істинна резистентність притаманна всім штамам конкретного роду або виду; вона обмежує спектр бактерійної активності певного антибіотика. Ця резистентність є хромосомно-опосередкованою і за жодних обставин не передається іншим бактеріям. Наприклад, значна частина грибів, передусім дріжджових, володіє природною поліантибіотикорезистентністю.

Таким чином, пошук мікроорганізмів, які можна використовувати як пробіотики, є тривалим і складним процесом. Склад пробіотика передусім повинен бути безпечним. Мікроорганізм не може бути патогенним, і особливу увагу треба звертати на можливість розвитку інфекції в імунодефіцитних осіб. Дуже небажано, щоб культура, яка входить до складу пробіотика, містила плазмідні антибіотикорезистентності, оскільки гени, відповідальні за цю особливість, можуть бути передані патогенним мікробам в організмі пацієнта. Водночас мікроорганізми мають бути стійкими до дії антибіотиків, кислоти і жовчі, щоб досягти передбачуваної зони колонізації.

Наш досвід використання пробіотиків дає змогу стверджувати, що зазначеним вимогам практично повною мірою відповідають так звані біоентеросептики, мікроорганізми яких не належать до індигенної кишкової флори та елімінуються з кишечника самостійно. Серед таких препаратів в Україні зареєстровані дріжджові гриби *Saccharomyces boulardii* («Ентерол-250») та сапрофітні спороутворювальні анаероби («Субалін», «Ентерожерміна»). Щоправда, пробіотична активність сапрофітних спороутворювальних анаеробів точно не встановлена [23]. Поряд з цим, ефективність *S. boulardii* підтверджена не тільки багаторічним досвідом використання ентеролу-250 у більшості європейських країн, але й поглибленими мультицентровими, рандомізованими та плацебоконтрольованими дослідженнями (поряд із *S. boulardii* таку ж оцінку отримали ще *Lactobacillus GG*) [24, 25]. Ефективність усіх інших бактерійних препаратів, задекларована розробниками, поки що подібного офіційного, незалежного плацебо-контрольованого підтвердження не отримала.

Важливою позитивною ознакою є те, що використання ентеролу-250 можливе паралельно з антибактерійною терапією. Генетична відмінність дріжджів запобігає можливості переходу плазмід з фактором антибіотикорезистентності до збудників гострих кишкових інфекцій [8, 9]. Крім того, *S. boulardii* мають значний антагоністичний вплив на патогенну та умовно-патогенну флору, що базується на природних властивостях грибів [26-28]. Попавши в травний канал, сахароміцети починають посилено розмножуватися, оскільки температура 37 °C є оптимальною для їхнього росту. Кислота шлунка не діє на ці гриби, вони не перетравлюються і при щоденному прийманні зберігають життєздатність в усіх відділах травної системи [29]. *S. boulardii* не проникають у системний кровообіг та мезентеріальні лімфатичні вузли. До того ж дріжджові гриби не колонізують кишечник, який звільняється від них через 3-5 днів після припинення лікування [29, 30].

Препарат підвищує місцевий імунний захист у результаті активування продукції IgA та інших імуноглобулінів. Антисекреторний ефект за рахунок специфічного впливу на зв'язування бактерійних токсинів у рецепторах кишечника забезпечує антитоксичну дію ентеролу, особливо щодо токсинів *Clostridium difficile*, а також ентеротоксинів [31]. Механізм антитоксичної дії *Saccharomyces boulardii* може бути пов'язаний з виробленням протеаз, здатних розщеплювати ентеротоксини, синтезом протеїнів, що діють на мембранні рецептори, адгезією до ентероцитів, зниженням утворення цАМФ із наступним зменшенням секреції води. Препарат підвищує активність дисахаридаз тонкої кишки (лактази, мальтази), має трофічний вплив на слизову оболонку кишечника за рахунок поліамінів сперміну та спермідину [26]. Показання до призначення ентеролу-250 – рецидивні захворювання, спричинені *Clostridium difficile*, коліти та діареї, пов'язані з вживанням антибіотиків (ентерол знижує ризик розвитку антибіотикоасоційованої діареї в 2,5-4 рази) [23, 32], а також усі гострі інфекційні діареї. Лікування *S. boulardii* дає добрі результати навіть у хворих на СНІД, які добре переносять ці дріжджі [9].

S. boulardii, що вже протягом багатьох років широко використовуються в Західній Європі, очевидно, є відносно безпечними: протягом 18 років на фоні мільйонів призначених курсів лікування було відзначено тільки 7 добре задокументованих побічних ефектів [33].

