



И.Н. Скрыпник, А.С. Маслова

Украинская медицинская стоматологическая академия,
Полтава

Современные спорообразующие пробиотики в клинической практике

Ключевые слова

Пробиотики, спорообразующие бактерии, штаммы, лечение нарушения микрофлоры кишечника.

Общепризнана важная роль микроэкологии кишечника в обеспечении здоровья организма в целом, так как минимальные нарушения состава микрофлоры приводят к развитию различных заболеваний органов и систем. Доказано, что микробные консорциумы организованы в многослойные биопленки, сбалансированные по видовому составу.

Среди лекарственных препаратов, используемых для восстановления микробиоценоза человека, особое место занимают специфические микробные препараты — пробиотики. Во всем мире продукцию, содержащую пробиотические бактерии, широко используют как для функционального питания, так и в лечебно-профилактических целях [10]. В здравоохранении уже около 80 лет применяют препараты живых лакто-, бифидо-, колибактерий. Однако они не всегда проявляют достаточное антагонистическое действие в отношении патогенных штаммов бактерий и некоторых грибов, что привело к поиску новых микроорганизмов, таких как бактерии рода *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Clostridium*, *Sporolactobacillus* [2, 42, 54].

Разработка эффективных методов бактериальной терапии с использованием пробиотиков дает основание по праву называть XXI век эрой пробиотиков. Именно широкое внедрение в клиническую практику в ближайшие десятилетия продуктов и препаратов пробиотического происхождения позволит сократить потребление населением планеты медикаментозных химиопрепаратов не менее, чем на треть [18, 57].

Микроорганизмы, включаемые в группу пробиотиков, должны обладать:

- резистентностью к хлористоводородной кислоте и желчи, что обеспечивает им возможность

выжить при прохождении через верхние отделы пищеварительного канала (ПК);

- способностью к адгезии на эпителиальных клетках кишечника;
- способностью быстро размножаться, колонизируя кишечник;
- способностью нормализовать состав кишечной микрофлоры;
- способностью персистировать в кишечнике с проявлением свойств, характерных для данного вида пробиотиков;
- не иметь признаков патогенности;
- сохранять жизнеспособность как в пищевых продуктах, так и в лиофилизированных фармацевтических препаратах [36, 38].

Особенностью назначения пробиотиков является оценка характера нарушения микробиоценоза каждого больного с учетом спектра и специфики течения патологических процессов, ассоциированных с кишечным дисбиозом.

Определенные группы микроорганизмов способны оказывать пробиотические эффекты. Так, культуры дрожжей *Saccharomyces boulardii* не входят в состав микробиоты человека, хотя способны предотвращать рецидивы псевдомембранозного колита, вызываемого *Clostridium difficile*, путем секреции протеаз, разрушающих токсины *Cl. difficile* [31]. Ряд спорообразующих бактерий (*Bacillus*, *Brevibacillus*, *Clostridium*, *Sporolactobacillus*) подавляют кишечные расстройства даже в большей степени, чем классические пробиотики на основе лакто- и бифидобактерий [42]. Однако спорообразующие бактерии в качестве пробиотиков применяют значительно реже и с большими ограничениями, чем традиционные про-

биотики, что связано, во-первых, с их родством с патогенными и токсигенными видами (*Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens*, *C. botulinum*) и, во вторых, с их чужеродностью к нормальной микрофлоре кишечника.

Способность спорообразующих бактерий элиминироваться после оказания пробиотического действия привела к разработке препаратов нового поколения — так называемых самоэлиминирующих антагонистов [6]. На сегодняшний день насчитывается более пятидесяти препаратов, созданных на основе спороформирующих бактерий.

Накоплен достаточный клинический опыт по изучению «Биоспорина» — препарата, разработанного в Киевском НИИ микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного (Украина) на основе природных штаммов *B. subtilis* и *B. licheniformis* [16]. «Биоспорин» показал высокую эффективность при острых кишечных инфекциях, вызванных патогенной и условно-патогенной микрофлорой, после острой кишечной инфекции, а также при коррекции дисбиоза кишечника, развившегося в результате длительного приема антибактериальных средств.

В конце 2008 г. на рынке Украины появился пробиотический препарат «Энтерожермина» (Санofi-Авентис, Франция), содержащий активный ингредиент — полиантибиотико-резистентные споры штаммов *Bacillus clausii* (N/R, O/C, SIN и T), изначально идентифицированный как *Bacillus subtilis*, для перорального применения.

Bacillus clausii таксономически идентифицирован в Институте Луи Пастера (Париж), геном штамма которого был изучен в 2005 г.

«Энтерожермина» относится к подгруппе пробиотиков-биоэнтросептиков и представляет собой живые микроорганизмы, не встречающиеся в составе облигатной микробиоты человека (транзиторная микрофлора), но способные элиминировать оппортунистическую микробиоту кишечника.

Для глубокого понимания механизмов действия нового препарата пробиотического ряда целесообразно проанализировать физиологические аспекты *Bacillus clausii*, его влияние на иммунную систему, микробиоценоз с учетом антибиотикорезистентности, оценить безопасность применения, определить роль и место в фармакотерапии заболеваний внутренних органов.

Характеристика спорообразующих бактерий

Род *Bacillus* насчитывает 77 видов и включает в себя обширную группу аэробных или факультативно-анаэробных грамположительных микроор-

ганизмов палочковидной формы, которые способны образовывать эндоспоры. Наиболее типичен вид *B. subtilis*. При помощи *B. subtilis* и *B. cereus* создаются анаэробные условия роста [49].

Представители рода *Bacillus* выделяются из воды, пыли, почвы и воздуха. Они способны вызывать порчу таких продуктов питания, как картофель, хлеб, молоко. *Bacillus* обладают широким спектром биологической активности, проявляя антагонистическое действие по отношению к патогенной микрофлоре. В то же время они синтезируют пектины, целлюлозу, ферменты, лизирующие крахмал, различные аминокислоты и антибиотики [39]. В организм человека *Bacillus* попадают путем случайно или в результате приема ферментированных продуктов питания.

Представители рода *Bacillus* в норме не колонизируют пищеварительный канал, выступая в качестве транзиторной микрофлоры. Однако известно более 20 пробиотиков, полученных на основе следующих видов: *coagulans*, *subtilis*, *clausii*, *cereus*, *toyoi*, *licheniformis*, *mesentericus*, *polymyxa* и др. [55].

Физиологические аспекты влияния

Bacillus clausii — грамположительная аэробная, алкалофильная, эндоспорообразующая факультативная палочковидная бактерия. *B. clausii* синтезирует каталазу и оксидазу, гидролизует желатин и крахмал, редуцирует нитраты, развивается при температуре 30–50 °C и в присутствии NaCl (до 10 %).

Началом действия всех пробиотических препаратов на основе штаммов бактерий рода *Bacillus* можно считать время их попадания в пищеварительный канал. Данные пробиотики представляют собой лиофилизированную массу бактерий, большинство из которых находится в форме спор, т. е. в состоянии анабиоза. После попадания в пищеварительный канал бактерии разбавляются в секрете слизистых оболочек и желудка и начинают интенсивно прорастать, независимо от физико-химического состояния желудочного содержимого.

Высокий пробиотический эффект «Энтерожермины» объясняется ее резистентностью к действию агрессивного содержимого верхних отделов пищеварительного канала — хлористоводородной кислоте, пепсину, желчным кислотам. Доказана способность спор бактерий *B. clausii* к частичной адаптации к выживанию в агрессивной среде желудочного содержимого в течение 120 мин при pH 2–7. При этом вегетативные формы *B. clausii* теряют жизнедеятельность при pH 2 в течение 10 мин, а при pH 3 — 60 мин. Хлористоводородная кислота выступает, по всей

видимости, в роли активатора спор, так как после помещения культуры *B. clausii* в кислую среду желудка отмечается более интенсивное и синхронное развитие спор. Вегетативные формы бактерий живут и развиваются при pH > 4,5, а оптимальными средовыми условиями для развития пробиотических штаммов *B. clausii* является pH 8 [24].

Минимальная ингибирующая концентрация смеси конъюгированных и неконъюгированных желчных кислот после 24-часовой инкубации для спор составляет 1 %, а для вегетативных форм в условиях ко-инкубации со свободными желчными кислотами — менее 0,1 %. Штаммы *B. clausii* способны развиваться в жидкой и агаризированной среде в микроаэрофильных условиях, а все четыре пробиотических штамма *B. clausii* также могут размножаться и в анаэробных условиях при добавлении натрия нитрата в среду [23].

В исследованиях на животных установлен факт перехода 90 % спор в вегетативные формы в течение 2 ч после введения препарата, что сопровождается интенсивной продукцией, в том числе и экстрацеллюлярной, физиологически активных веществ (протеолитических ферментов, антибиотиков и других) [12, 46]. Возможность микроаэрофильного развития и размножения *B. clausii* в условиях анаэробноза при наличии в среде натрия нитрата свидетельствует о возможной адаптации бактерий к среде кишечника, что возможно за счет высокой концентрации цитохромов в алкилофильных бациллах [58]. Таким образом, физиологические свойства *B. clausii* свидетельствуют о способности споровых форм размножаться, а вегетативных — выживать во время транзита по пищеварительному каналу.

Бактерии рода *Bacillus* обладают определенной ферментативной активностью, максимум которой у некоторых штаммов приходится на первые сутки. Поступление в желудок амилазы и липазы, синтезируемых культурами *Bacillus*, приводит к нормализации процессов пищеварения особенно при дисбиозе. Штаммы *B. subtilis* способны продуцировать значительное количество аминокислот, в том числе и незаменимых: треонин, глутаминовую кислоту, аланин, валин, тирозин, гистидин, орнитин и др. [3, 15].

SIN и T штаммы *B. clausii*, входящие в состав «Энтерожермины», синтезируют большое количество витамина B₂ — около 20 нг, тогда как штаммы O/C, N/R вырабатывают около 10 нг. Активный синтез витамина B₂ штаммами *B. clausii* позволяет организму человека физиологически компенсировать витаминную недостаточность.

Представители рода *Bacillus* способны синтезировать около двухсот антибиотиков, что свидетельствует об их широкой антимикробной активности [8]. Pinchuk и соавторы [52] выделили два бактерицидных вещества из штамма *B. subtilis*, которые были устойчивы к нагреванию, действию протеаз и активны *in vitro* против *Helicobacter pylori*.

С помощью специально оборудованного эндоскопа установлено, что после введения препарата в дозе 1–10 млрд жизнеспособных клеток в 1 мл секрета находится 10⁶–10⁷ КОЕ жизнеспособных бацилл, что достаточно для эффективного ингибирования патогенной микрофлоры. Доказано, что уже на 3-и сутки после введения спорообразующего пробиотика значительно снижалось количество *Staphylococcus aureus* и *E. coli*, а в последующие дни наблюдалась полная элиминация их из организма. Данный эффект подавления патогенной и условно-патогенной микрофлоры особенно важен, т. к. доказана роль патогенной микрофлоры, содержащейся в пищеварительном канале, в развитии бактериемии с последующей транслокацией ее в органы и ткани [9, 11].

Доказана способность спорообразующих пробиотиков синтезировать несколько видов пептидов, подобных по базовой структуре и в то же время отличающихся по конечным группам, что объясняет их разноплановый антибиотический эффект и замедленное формирование устойчивых вариантов [11].

При попадании бактерий рода *Bacillus* в пищеварительный канал нормализуется соотношение белковых фракций крови, вероятно, за счет активации синтеза специфических иммуноглобулинов [7, 17]. Протеолитические, пектинолитические, липолитические и целлюлолитические свойства представителей рода *Bacillus* могут приводить к разрушению тромбов и гепарина, различных токсических продуктов и аллергенов, к уменьшению образования холестерина миелин [10, 15].

Механизмы пробиотического действия

Бактерии рода *Bacillus* обладают выраженной ферментативной активностью. Протеазы бацилл стимулируют процессы пищеварения, усиливая продукцию витамина B₂ и снижая аллергенность пищи [44], субтилизин и каталаза активизируют рост *Lactobacillus* [43].

G. Casula и S. Cutting [22] с помощью генно-инженерного химерного гена *fts* H-lacZ, экспрессируемого только в растущих клетках, установили способность спор *B. subtilis* прорастать в кишечнике мышей и доказали их способность ока-

зывать пробиотический эффект. Через 4 сут после введения в желудок мышей спор *B. subtilis* их количество увеличивается, и они переходят в вегетативные формы [41]. Процесс прорастания спор в кишечнике сопровождается синтезом целого ряда физиологически активных веществ — антибиотиков, лизоцима, аминокислот, витаминов, протеолитических ферментов [8]. Споры *B. subtilis*, в отличие от традиционных пробиотиков на основе лакто- и бифидобактерий, обладают высокой антагонистической активностью в отношении стафилококков, дрожжей.

Доказано угнетение *in vitro* роста большинства лактобацилл и энтеробактерий под действием дипиколиновой кислоты, синтезируемой спорами *Bacillus spp.*, при отсутствии ее влияния на энтерококки [45]. Пробиотическое действие бацилл начинается уже при первом контакте их с эпителиоцитами пищеварительного канала человека с последующей диффузией протеолитических ферментов, каталазы, дипиколиновой кислоты на слизистую оболочку кишечника, что приводит к стимуляции обмена и пищеварения [14]. Именно ингибирующее действие дипиколиновой кислоты в сочетании с усилением местного метаболизма являются вновь открытыми механизмами действия споровых пробиотиков. В течение последующих 2 ч 90 % спор *Bacillus* переходят в кишечнике в вегетативные формы, которые активно подавляют рост патогенных микроорганизмов и интенсивно продуцируют физиологически активные вещества [8], что проявляется и в инактивации химического мутагена —

4-нитрохиолин-1-оксида (4NQO) [21]. В нижних отделах кишечника споры и вегетативные формы пробиотических штаммов *Bacillus* стимулируют иммунокомпетентные клетки кишечника и макрофаги, приводя к усилению продукции интерферонов и цитокинов [33, 35, 56].

Механизмы пробиотического эффекта «Энтерожермины» представлены на рисунке.

Среди спорообразующих бактерий, контаминирующих процесс производства лизина, обнаружено свойство штаммов *B. subtilis* подавлять рост стафилококков, некоторых грамотрицательных бактерий и развитие грибов рода *Candida*. При этом они не влияли на представителей рода *Azomonas* [5].

Препарат активен против основных грамположительных бактериальных агентов, *Staphylococcus aureus*, *C. difficile*, *Enterococcus faecium* и ротавирусов [55].

Большинство наблюдений за людьми, принимавшими пробиотик на основе бактерий рода *Bacillus*, показали либо полную элиминацию бацилл из организма, либо наличие их в малых, не превышающих характерных для данного региона, количествах [12].

При изучении процессов адгезии бацилл на стенках кишечника доказано, что количество фиксирующихся бактерий прямо пропорционально количеству клеток в препарате. Так, при содержании 10^6 бацилл в 1 мл пробиотика на 1 мм^2 поверхности слизистой оболочки кишечника прикрепляются несколько десятков микробных клеток.

Транзит *Bacillus clausii* через пищеварительный канал

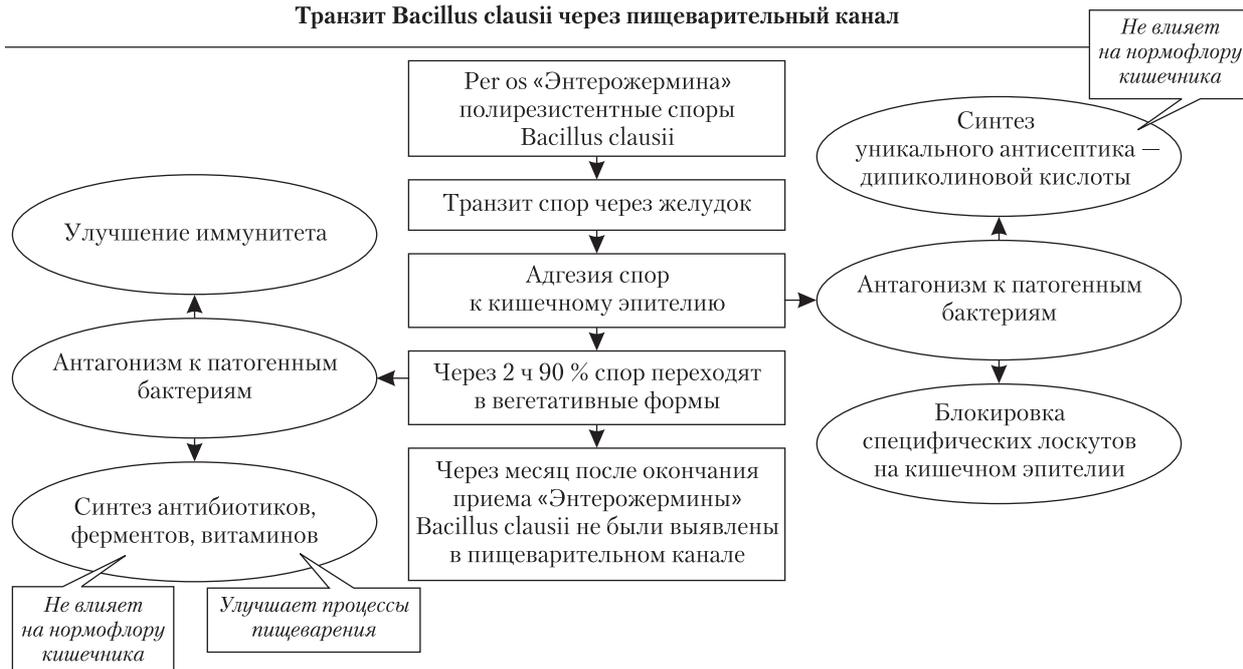


Рисунок. Механизмы пробиотического эффекта «Энтерожермины»

Активность пробиотического действия в дистальных отделах кишечника зависит от особенностей патологического процесса. Так, при сниженной секреторной функции желудка и повышенной перистальтике пищеварительного канала вегетативные формы бацилл обнаруживаются в кишечнике уже через несколько минут после введения препарата.

Следовательно, пробиотические эффекты спорообразующих бактерий при различных острых и хронических заболеваниях кишечника реализуются в результате:

- 1) их антагонистического влияния на патогенные бактерии под воздействием дипиколиновой кислоты спор, а также антибиотиков и ферментов, синтезируемых вегетативными формами;
- 2) стимуляции иммунокомпетентных клеток, активации выработки интерферонов;
- 3) сочетания указанных факторов, включая транслокацию в кровь, лимфу и внутренние органы, что усиливает защитные силы организма в целом.

Влияние на иммунитет

В.В. Смирнов и соавторы [14] доказали стимулирующее воздействие бактерий рода *Bacillus* на регионарные лимфатические узлы и лимфоциты крови, что значительно повышает уровень защитных реакций организма. Установлен факт повышения продукции эндогенного интерферона уже в первые минуты после попадания пробиотика в организм. Nozaki-Renard [51] доказал активацию индукции эндогенного интерферона при парентеральном введении культур бактерий рода *Bacillus*, а последние исследования показывают подобный эффект и после перорального их введения.

Обнаружена способность препарата «Энтерожермина» увеличивать продукцию интерферона *ex vivo*, что стимулирует перитонеальные клетки брюшины и селезенки [48]. G. Ciprandi и соавторы [25] изучали действие спор и вегетативных форм *Bacillus clausii* на пролиферацию Т-клеток и выработку лимфокина моноклональными клетками, взятыми от здоровых добровольцев. Доказана способность вегетативных клеток стимулировать индуцированную митогеном пролиферацию моноядерных клеток при отсутствии влияния споровых и вегетативных форм на продукцию интерлейкина-2 или γ -интерферона.

Иммуномодулирующее действие спор, входящих в состав препарата «Энтерожермина», доказано в исследовании на 11 пациентах с множественной миеломой [56]. Отмечено улучшение иммунных параметров и хемотаксиса моноцитов у всех больных, у 4 пациентов уменьшились про-

явления дыхательных инфекций, побочных реакций не выявлено.

Пероральное введение спор *B. subtilis* приводит к повышению активности секретируемого клетками IgA [35]. В исследованиях на добровольцах показана высокая иммунологическая активность данного штамма спорообразующих бактерий и подтверждено его противовирусное действие [1].

Таким образом, штаммы спорообразующих бактерий обладают высокой эффективностью в качестве биологических средств нормализации микробиоценоза кишечника, а также стимуляции иммунного ответа организма.

Иммуномодулирующие свойства и высокий профиль безопасности *Bacillus clausii* показаны в исследовании G. Ciprandi и соавторов [27] с участием детей, страдающих аллергией (средний возраст 4,4 года), с рецидивирующими респираторными заболеваниями. Назначение «Энтерожермина» по 2 флакона в сутки в течение 4 нед сопровождалось достоверным снижением уровня IL-4 и увеличением показателей интерферона (IFN- γ), IL-12, трансформирующего фактора роста (TGF- β) и IL-10, определяемых до и после лечения методом иммуноферментного анализа в промывных водах полости носа.

Пробиотики положительно влияют на здоровье «хозяина» за счет сложных механизмов взаимодействия. Иммуномодулирующий эффект достигается путем активации иммунного ответа, опосредованного Т-хелперами 1-го типа (Th₁) и Т-регулируемыми клетками (Tr₁) при снижении активности Т-хелперов 2-го типа (Th₂) [34]. Пробиотики можно использовать для профилактики инфекций пищеварительного канала у детей и иммуномодуляции [26], так как при аллергии отмечаются высокие уровни IL-4 и низкие IFN- γ , отражающие поляризацию иммунного ответа в сторону Th₂.

Результаты открытого плацебоконтролируемого исследования [37] убедительно подтвердили возможность профилактики рецидивов респираторных инфекций у детей, получавших *B. clausii*. Иммуномодулирующий эффект *B. clausii* заключается в специфической стимуляции выработки sIgA у человека [35] и неспецифическом усилении продукции IFN- γ у животных [40].

Антибиотикорезистентность и «Энтерожермина»

Следует учитывать возможность приобретения генов резистентности от бактерий-комменсалов, колонизирующих кишечник. У пациентов с выраженным иммунодефицитом при инфекциях, вызванных собственно пробиотиком, вслед-

ствии полирезистентного штамма существенно сокращается выбор антибиотиков.

«Энтерожермина» — бактериальный препарат, содержащий 4 антибиотикорезистентных штамма ОС, NR, Т и SIN *Bacillus clausii*, что обуславливает их выживаемость при одновременном приеме антибиотиков [47].

Чувствительность *B. clausii* к некоторым антибиотикам изучена согласно рекомендациям Национального комитета по клиническим и лабораторным стандартам США и представлена в таблице.

О/С штамм *B. clausii* устойчив ко всем антибиотикам, к которым резистентны в различной степени все 4 штамма, входящие в состав «Энтерожермины».

Таким образом, все четыре штамма *B. clausii* обладают широким спектром резистентности ко многим антибиотикам, которые используют для лечения ряда заболеваний: пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, канамицин, тобрамицин, амикацин, макролиды, тетрациклин, хлорамфеникол, рифампицин.

Высокая степень гетерологической резистентности к антибиотикам, созданная искусственно, является базисом для предотвращения повреждения кишечной микрофлоры вследствие антибиотикотерапии [20]. Благодаря антибиотикорезистентности «Энтерожермину» можно применять в интервале между двумя курсами антибиотиков или на фоне антибиотикотерапии.

Определена чувствительность *B. clausii* к карбапенемам, ко-тримоксазолу, гентамицину, фторхинолонам, гликопептидам, оксазалидинонам, стрептограминам.

Профилактика осложнений антибиотикотерапии

В последние 8 лет результаты научных исследований [29, 30, 32] убедительно показывают, что применение пробиотиков при язвенной болезни, ассоциированной с *Helicobacter pylori*, на фоне

стандартной семидневной антихеликобактерной терапии (АХБТ) не только предупреждает возникновение побочных эффектов и снижает частоту их развития, но и повышает эффективность эрадикации, а также улучшает переносимость лечения. Для реализации этого эффекта важное значение имеет способность спор и вегетативных форм пробиотика *B. clausii* адгезироваться к клеткам кишечного эпителия, предотвращая адгезию энтеропатогенных микроорганизмов по принципу конкурентного блокирования специфических локусов [19].

Результаты одноцентрового проспективного двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого исследования [50] свидетельствуют о значительно более редком возникновении побочных эффектов у больных язвенной болезнью при применении «Энтерожермины» на фоне АХБТ по сравнению с плацебо. Так, ощущение тошноты у пациентов, получавших *B. clausii*, через неделю снизилось в 2 раза по сравнению с группой больных, получавших плацебо. Частота и периодичность рвоты, запора и кожной сыпи в исследуемой группе, их степень выраженности также были ниже по сравнению с группой «плацебо», но статистически эти различия не были достоверны. Индивидуальная оценка самими пациентами переносимости лечения в группе, получавшей *B. clausii*, через 2 нед была значительно выше, чем в группе «плацебо» ($p < 0,05$).

Различий уровня эрадикации *Helicobacter pylori*, определяемой методом ^{13}C -уреазного дыхательного теста, через 6 нед после завершения лечения не отмечено. Так, в группе больных язвенной болезнью, получавших *B. clausii*, он составил 72,2 %, в группе «плацебо» — 71,2 %. Вероятно, это связано с низкой дозой «Энтерожермины» (1 флакон, содержащий $2 \cdot 10^9$ спор *B. clausii*; 3 раза в 1 сут в течение 14 сут), которая не обладает антихеликобактерной активностью. Таким образом, применение препарата в среднетерапевтической дозе на фоне 7 сут АХБТ и после лечения в течение 1 нед способствует достоверному снижению частоты побочных явлений, лучшей переносимости лечения по сравнению с плацебо и не влияет на уровень эрадикации хеликобактерной инфекции.

Важной проблемой клинической медицины является выбор профилактики побочных реакций со стороны пищеварительного канала, вызванных пероральной антибиотикотерапией. Препаратами выбора в решении этой проблемы могут быть классические пробиотики (лактобациллы и бифидобактерии) и бактериальные споры (*B. clausii*). Установлена резистентность к ванкомицину, характерная для лактобактерий опреде-

Таблица. Антибиотикорезистентность *Bacillus clausii* [28]

Резистентность	Количество резистентных штаммов
Пенициллины	4/4
Цефалоспорины	4/4
Аминогликозиды (канамицин, тобрамицин, амикацин)	1/4 (SIN)
Макролиды	4/4
Тетрациклины	1/4 (Т)
Хлорамфеникол	4/4
Рифампицин	1/4 (NR)

ленных видов и *Enterococcus faecium*. Некоторые виды лактобактерий вырабатывают пептидогликан, определяющий нечувствительность к ванкомицину, а *Enterococcus faecium* имеет приобретенную и плазмидоопосредованную резистентность, так как чувствителен к ванкомицину [28].

Пробиотики доказали эффективность в качестве профилактического средства, и потенциально они также могут быть использованы для уменьшения выраженности признаков и симптомов в случае возникновения антибиотикассоциированной диареи. Назначение экзогенных симбионтных микроорганизмов (пробиотиков) направлено на восстановление нормомикробиоты кишечника.

Необходимо помнить, что только полирезистентные пробиотики нужно применять одновременно с пероральными антибиотиками для предотвращения побочных эффектов со стороны пищеварительного канала. Перенос генов резистентности от пробиотика к микроорганизмам, патогенным для человека, исключен для «Энтерожермины», ибо в течение многих лет применения препарата ни один ген *B. clausii* не был обнаружен у патогенных бактерий.

Радиопротекторный эффект

Доказана способность пробиотиков на основе спорообразующих бактерий поглощать и прочно связывать радиоактивный цезий и стронций [4]. Следовательно, учитывая их свойство полностью элиминироваться из организма человека, можно утверждать, что бактерии рода *Bacillus* способствуют выведению солей тяжелых металлов.

Оценка профиля безопасности

Многолетний опыт применения «Энтерожермины» как пробиотика позволяет сделать вывод о высоком профиле безопасности препарата. При этом следует учитывать уникальные его свойства — резистентность к широко назначаемым антибиотикам, отсутствие передачи резистентности даже между близкими к *B. clausii* видами, а также перекрестной передачи генов патогенным бактериям, несмотря на 50-летнее применение [20].

Проведено 19 клинических исследований по изучению эффективности «Энтерожермины», включающих 862 участника в возрасте от 20 сут до 85 лет. Из них 293 ребенка были в возрасте до 14 лет. Изучены фармакокинетика и фармакодинамика препарата (119 участников), его эффективность при гастроинтестинальных расстройствах (591 участник), а также с профилактической целью (152 участника).

Учитывая выраженную антибактериальную активность «Энтерожермины» против основных грамположительных бактериальных агентов

(*Staphylococcus aureus*, *C. difficile*, *Enterococcus faecium*), препарат можно использовать как альтернативу традиционной антибиотикотерапии при кишечных инфекциях, вызванных вышеуказанными возбудителями.

«Энтерожермина» хорошо переносится и достаточно широко используется в Италии с 60-х годов XX столетия при вирусной диарее у детей и для уменьшения вероятности возникновения побочных эффектов антибиотикотерапии.

F. Ciffo [24] и P. Mazza и соавторы [47] обнаружили устойчивость 4 штаммов *Bacillus clausii*, входящих в состав препарата, к цефалоспорином, макролидам и хинолонам, но в то же время факт передачи данной устойчивости другим бактериям не установлен.

Необходимо обратить внимание, что во время многочисленных морфологических, биохимических, бактериологических, иммунологических исследований пробиотиков на основе спорообразующих бактерий, в том числе и «Энтерожермины», как в медицинской практике, так и в экспериментах на животных не выявлено побочных явлений, то есть препараты можно считать достаточно безопасными.

Показания к назначению:

- для профилактики и лечения нарушения кишечной микрофлоры;
- для профилактики и лечения антибиотикоиндуцированного кишечного дисбиоза и нарушений микробиоценоза кишечника вследствие применения химиотерапевтических средств;
- для лечения и профилактики дисбиоза кишечника, вызванного *Staphylococcus aureus*, *C. difficile*, *Enterococcus faecium*, в качестве альтернативы традиционной антибиотикотерапии при этих инфекциях.

Препарат выпускают в виде суспензии для перорального применения. Он имеет нейтральный вкус, содержит 2 млрд спор в 5 мл. Характеризуется хорошей стабильностью в аспекте хранения препарата при высоких и низких температурах.

Назначают «Энтерожермину» через равные промежутки времени, растворяя содержимое флакона в воде, молоке, чае или апельсиновом соке. Среднетерапевтические дозы для взрослых — 2–3 флакона в 1 сут, для новорожденных и детей — 1–2 флакона в 1 сут. Продолжительность лечения составляет от 5 до 14 сут (в зависимости от конкретной клинической ситуации).

Если препарат назначают одновременно с антибиотиками, его необходимо принимать между двумя приемами антибиотических средств.

Противопоказаний к применению препарата в период беременности и кормления грудью нет.

Он также не влияет на способность управлять автомобилем и выполнять работы, связанные с повышенным вниманием.

Нет сообщений о взаимодействии препарата с другими лекарственными средствами.

Споры *B. clausii*, содержащиеся в препарате, способны выживать в условиях тепла и повышенной влажности и не нуждаются в особых условиях хранения. Их жизнеспособность сохраняется при комнатной температуре в течение нескольких лет без потери клеточной активности.

Выводы

Пробиотические препараты на основе бактерий рода *Bacillus* («Энтерожермина») за счет синтеза биологически активных веществ оказывают как прямое действие на патогенную и условно-патогенную микрофлору, так и опосредованное, путем активации иммунного ответа; продуцируют различные ферменты, аминокислоты, способствующие нормализации процессов пищеварения; выделяют антибиотикоподобные вещества (дипиколиновую кислоту), непосредственно влияя на патогенную и условно-патогенную микрофлору.

«Энтерожермина» — высокоэффективный пробиотический препарат для перорального применения, содержащий активный ингредиент — полиантибиотико-резистентные споры

Bacillus clausii и обладающий высоким профилем безопасности.

Важными отличительными особенностями препарата являются хорошая таксономическая идентификация *B. clausii*, устойчивость спор к факторам окружающей среды и агрессивному содержанию верхних отделов пищеварительного канала, противомикробная активность, хорошие адгезивные и резистентные свойства, эффект самоэлиминации, высокий профиль безопасности, подтвержденный полувекровым клиническим опытом, антибиотикорезистентность, которая не передается патогенным бактериям.

Бактериальные пробиотики целесообразно применять для профилактики побочных эффектов со стороны пищеварительного канала, вызванных приемом антибиотиков, преимущественно перорально, и химиотерапевтических средств.

Перспективы

Плейотропные эффекты спорообразующих бактерий рода *Bacillus* можно в перспективе использовать в кардиологии для разработки и профилактики тромбоза, в гастроэнтерологии — как одного из возможных методов превенции холестерина калькулеза за счет воздействия бацилл на состав микробиоценоза кишечника и взаимосвязей метаболических процессов в организме.

Список литературы

- Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клиничко-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. — М.: Гэотар- Медиа, 2006. — 304с.
- Вьюницкая В.А., Бойко Н.В., Спивак Н.Я., Ганова Л.А. Некоторые механизмы действия новых микробиотиков // Микробиологические и биотехнологические основы интенсификации растениеводства и кормопроизводства. — Алма-Ата, 1990. — С.17.
- Вьюницкая В.А., Бойко Н.В., Спивак Н.Я., Гранова Л.А. Некоторые механизмы действия новых микробиотиков // Микробиологические и биотехнологические основы интенсификации растениеводства и кормопроизводства. — Алма-Ата, 1990. — С. 17.
- Жалко-Титаренко В.П., Машенко Н.П., Мурашко В.А. и др. Становление микробиологии после ядерной аварии на Чернобыльской АЭС // Актуальные проблемы ликвидации медицинских последствий аварии на Чернобыльской АЭС: Тез. докл. Укр. науч.-практич. конф. (Киев, 21—23 апреля 1992). — К., 1992. — С.77—78.
- Згонник В.В., Фуртат И.М., Василевская И.А. и др. Антагонистические свойства спорообразующих бактерий, контаминирующих процесс производства лизина // Микробиол. журн. — 1993. — Т. 55, № 4. — С. 53—58.
- Мазанкова Л.Н., Лыкова Е.А. Пробиотики: характеристика препаратов и выбор в педиатрической практике // Детские инфекции. — 2004. — № 1. — С. 18—23.
- Никитенко В.И. Вместо лекарств — бактерии // Наука в СССР. — 1991. — № 4. — С. 116—121.
- Осипова И.Г., Михайлова Н.А., Сорокулова И.Б. и др. Споры пробиотики // Журн. микробиол. — 2003. — № 3. — С. 113—119.
- Осипова И.Г., Сорокулова И.Б., Васильева Е.А., Буданова Е.В. Доклинические испытания новых споровых пробиотиков // Вестн. РАМН. — 2005. — № 12. — С. 36—40.
- Похиленко В.Д., Перельгин В.В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность // Хим. и биол. безопасность. — 2007. — № 2—3. — С. 20—41.
- Резник С.Р., Слабоспицкая А.Т., Качан А.Ф. Влияние бактериемии на содержание свободного аргинина крови при заболеваниях желудочно-кишечного тракта // Микробиол. журн. — 1979. — Т. 11, № 4. — С. 378—381.
- Смирнов В.В., Резник С.Р. Некоторые аспекты взаимодействия споровых аэробных бактерий с макроорганизмом // Микробиол. журн. — 1980. — Т. 42. — № 1. — С. 3—10.
- Смирнов В.В., Резник С.Р., Василевская В.А. Споры аэробные бактерии — продуценты биологически активных веществ. — К.: Наукова думка, 1983. — 148 с.
- Смирнов В.В., Резник С.Р., Вьюницкая В.А. и соавт. Современные представления о механизмах лечебно-профилактического действия пробиотиков из бактерий рода *Bacillus* // Микробиол. журн. — 1993. — Т. 55, № 4. — С. 92—112.
- Смирнов В.В., Резник С.Р., Сорокулова И.Б., Вьюницкая В.А. О некоторых механизмах возникновения бессимптомной бактериемии // Микробиол. журн. — 1988. — Т. 50, № 6. — С. 56—59.
- Сорокулова И.Б. Влияние пробиотиков из бацилл на функциональную активность макрофагов // Антибиотики и химиотерапия. — 1998. — № 2. — С. 20—23.
- Сорокулова И.Б. Перспективы применения бактерий рода *Bacillus* для конструирования новых биопрепаратов // Антибиотики и химиотерапия. — 1996. — Т. 41, № 10. — С. 13—15.
- Янковский Д.С., Дымент Г.С. Микрофлора и здоровье человека. — К.: Червона Рута-Турс, 2008. — 552 с.

19. Angioi A., Zanetti S., Sanna A. Adhesiveness of *Bacillus subtilis* strains to epithelial cells cultured in vitro // *Microb. Ecology in Health and Disease*.— 1995.— Vol. 8.— P. 71–77.
20. Bozdogan B., Galopin S., Gerbaud G. et al. Chromosomal aadD2 encodes an aminoglycoside nucleotidyltransferase in *Bacillus clausii* // *Antimicrob. Agents Chemother.*— 2003.— Vol. 47.— P. 1343–1346.
21. Caldini G., Trotta F., Cenci G. Inhibition of 4-nitroquinoline-1-oxide genotoxicity by *Bacillus* strains // *Res. Microbiol.*— 2002.— Vol. 153.— P. 165–171.
22. Casula G., Cutting S.M. *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract // *Appl. Environ. Microbiol.*— 2002.— Vol. 68.— P. 2344–2352.
23. Cenci G., Trotta F., Caldini G. Tolerance to challenges miming gastrointestinal transit by spores and vegetative cells of *Bacillus clausii* // *J. Appl. Microbiology*.— 2006.— Vol. 101.— P. 1208–1215.
24. Ciffo F. Determination of the spectrum of antibiotic resistance of the *Bacillus subtilis* strains of Enterogermina // *Chemioterapia*.— 1984.— Vol. 2, N 1.— P. 45–51.
25. Ciprandi G., Scordamaglia A., Venuti D. et al. In vitro effects of *Bacillus subtilis* on the immune response // *Chemioterapia*.— 1986.— Vol. 5, N 6.— P. 404–407.
26. Ciprandi G., Tosca M.A. Probiotics in paediatric allergy: evidence and prospectives for *Bacillus clausii* // *Ital. J. Paed. Allergy Immunol.*— 2002.— Vol. 2.— P. 49–57.
27. Ciprandi G., Tosca M.A., Milanese M. et al. Cytokines evaluation in nasal lavage of allergic children after *Bacillus clausii* administration: A pilot study // *Pediatr. Allergy Immunol.*— 2004.— Vol. 15.— P. 148–151.
28. Courvalin P. Antibiotic resistance: the pros and cons of probiotics // *Dig. Liver Disease*.— 2006.— Vol. 38, suppl. 2.— S. 261–265.
29. Cremonini F., Canducci F., Di Caro S. et al. *Helicobacter pylori* treatment: a role for probiotics? // *Dig. Dis.*— 2001.— Vol. 19.— P. 144–147.
30. Cremonini F., Di Caro S., Covino M. et al. Effect of different probiotic preparations on anti-*Helicobacter pylori* therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study // *Am. J. Gastroenterol.*— 2002.— Vol. 97.— P. 2744–2749.
31. Czerucka D., Rampal P. Experimental effect of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens // *Microb. and Infect.*— 2002.— Vol. 4.— P. 733–739.
32. Degtyarova I., Skrypnik I., Skopichenko S. Modern approaches to antihelicobacterial therapy and primary prophylaxis of the intestinal dysbiosis in peptic ulcer patients // *Gut*.— 2001.— Vol. 49, suppl. III.— P. 3166.
33. Duc le H., Hong H.A., Barbosa T.M. et al. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use // *Appl. Environ. Microbiol.*— 2004.— Vol. 70, N 4.— P. 2161–2171.
34. Elson C.O., Cong Y. Understanding Immune-Microbial homeostasis in intestine // *Immunol. Res.*— 2002.— Vol. 26.— P. 87–94.
35. Fiorini G., Cimminello C., Chianese R. *Bacillus subtilis* selectively stimulates the synthesis of membrane bound and secreted IgA // *Chemioterapia*.— 1985.— Vol. 4.— P. 310–315.
36. Fuller R., Gibson G.R. Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health // *Clin. Microbiol. Infect.*— 1998.— Vol. 4.— P. 477–480.
37. Galli E., Corgiolo M., Fiore L. et al. Valutazione di alcuni parametri immunologici in bambini con otite ricorrente trattati con spore di *B. subtilis* // *Clin. Ter.*— 1984.— Vol. 109.— P. 329–34.
38. Gibson G.R., Roberfroid M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics // *J. Nutr.*— 1995.— Vol. 125.— P. 1401–1412.
39. Godic Torcar K., Matijasic B.B. Partial characterisation of Bacteriocins produced by *Bacillus cereus* isolates from milk and milk products // *Food Technol. and Biotechnol.*— 2003.— Vol. 41, N 2.— P. 121–129.
40. Grasso G., Migliaccio P., Tanganelli C. et al. Restorative effect of *B. subtilis* spores on interferon production in aged mice // *Pharm Aging Proc.*— 1994.— Vol. 717.— P. 198–208.
41. Hoa T.T., Duc L.H., Insticato R. et al. Fate and dissemination of *Bacillus subtilis* spores in a murin model // *Appl. and Environ. Microbiol.*— 2001.— Vol. 67.— P. 3819–3823.
42. Hong H.A., Duc L.H., Cutting S.M. The use of bacterial spore formers as probiotics // *FEMS Microbiol. Rev.*— 2005.— Vol. 29, N 4.— P. 813–835.
43. Hosoi T., Ametani A., Kiuchi K., Kaminogawa S. Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (natto), catalase or subtilisin // *Can. J. Microbiol.*— 2000.— Vol. 46.— P. 892–897.
44. Hosoi T., Kiuchi K. Natto — a food made by fermenting cooked soybeans with *Bacillus subtilis* (natto) // *Handbook of Fermented Functional Foods* / Farnworth E.R. (editor).— Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2003.— P. 227–245.
45. Jadamus A., Vahjen W., Simon O. Studies on the mode of action of probiotics: effects of the spore-specific dipicolinic acid on selected intestinal bacteria // *J. Agr. Sci.*— 2005.— Vol. 143.— P. 529–535.
46. Luc R.G. La importancia del *Bacillus subtilis* en la terapeutica intestinal // *Med. Clin.*— 1958.— Vol. 31, N 9.— P. 420–424.
47. Mazza P., Zani F., Martelli P. Studies on the antibiotic resistance of *Bacillus subtilis* strains used in oral bacteriotherapy // *Boll. Chim. Farm.*— 1992.— 131.— P. 401–408.
48. Muscettola M., Grasso G., Blach-Olszewska Z. et al. Effects of *Bacillus subtilis* interferon production // *Pharmacol. Res.*— 1992.— Vol. 26.— P. 176–177.
49. Nakano M.M., Zuber P. Anaerobic growth of a «strict aerobe» (*Bacillus subtilis*) // *Annu. Rev. Microbiol.*— 1998.— Vol. 52.— P. 165–190.
50. Nista E.C., Candelli M., Cremonini F. et al. *Bacillus clausii* therapy to reduce side-effects of anti-*Helicobacter pylori* treatment: randomized, double-blind, placebo controlled trial // *Aliment. Pharmacol. Ther.*— 2004.— Vol. 20.— P. 1181–1188.
51. Nozaki Renard. Induction d'Interferon par *Bacillus subtilis* // *Ann. Microbiol.*— 1978.— Vol. 129, N 4.— P. 525–542.
52. Pinchuk I.V., Bressollier P., Verneuil B. et al. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics // *Antimicrob. Agents and Chemother.*— 2001.— Vol. 45.— P. 3156–3161.
53. Rowan N.J., Deans K., Anderson J.G. et al. Putative virulence factor expression by clinical and food isolates of *Bacillus* spp. after growth in reconstituted infant milk formulae // *Appl. Environ. Microbiol.*— 2001.— Vol. 67.— P. 3873–3881.
54. Sanders M.E., Morelli L., Tompkins T.A. Sporeformers as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus* // *Compr. Rev. Food Sci. and Food Safety*.— 2003.— Vol. 2.— P. 101–110.
55. Urdaci M.C., Bressollier Ph., Pinchuk I. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities // *J. Clin. Gastroenterol.*— 2004.— Vol. 38, N2.— P. 385–386.
56. Vacca A., Pantaleo G., Ronco M., Dammacco F. Chemotherapy for multiple myeloma using an intermittent combination drug schedule (Melphalan + Prednisolone) and alternating courses of *Bacillus subtilis* spores // *Chemioterapia*.— 1983.— Vol. 2, N 5.— P. 300–306.
57. Von Wright A. Regulating the safety of probiotics — the European approach // *Curr. Pharm. Des.*— 2005.— Vol. 11.— P. 17–23.
58. Yumoto I., Nakajima K., Ikeda K. Comparative study on cytochrome content of alkiliphilic *Bacillus* strains // *J. Ferment. Bioeng.*— 1993.— Vol. 83.— P. 466–469.

І.М. Скрипник, Г.С. Маслова

Сучасні спороутворювальні пробіотики в клінічній практиці

Наведено дані літератури щодо характеристики механізмів дії, ефективності та безпечності спороутворювальних бактерій, які застосовують як пробіотики. Детально викладено вплив пробіотика-біоентеросептика «Ентерожерміна», який містить поліантибіотикорезистентні спори штаму *Bacillus clausii*, на порушення мікрофлори кишечника, стан імунної системи.

Позитивними особливостями «Ентерожерміна» є таксономічна ідентифікація, ефект самоелімінації, антибіотикорезистентність, високий профіль безпеки та можливість застосування з метою профілактики побічних ефектів з боку травного каналу, зумовлених прийомом антибіотиків і хіміотерапевтичних засобів.

I.N. Skrypnyk, G.S. Maslova

Modern spore-creating probiotics in clinical practice

In the review the literature data concerning characteristic of functioning, effectiveness and safety of spore-creating bacteria used as probiotics are presented. Enterogermina is a probiotics-bioenteroceptic that contains spores of *Bacillus clausii*, resistant to antibiotics. It influences on intestinal microflora disturbance, condition of immune system.

Positive peculiarity of Enterogermina is a taxonomic identification, self-elimination effect, antibiotic resistance, high safety profile and possibility of use to avoid a side effects in gastrointestinal tract as a result of antibiotics and chemical-therapy.

Контактна інформація

Скрипник Ігор Миколайович, д. мед. н., проф., зав. кафедри
36024, м. Полтава, вул. Т. Шевченка, 23. ВДНЗ УМСА
Тел. (05322) 2-43-95

Стаття надійшла до редакції 28 квітня 2009 р.