

**И.Ю. Чичерин, И.П. Погорельский, И.А. Лундовских,
И.В. Дармов, Д.А. Соляник**
Научное общество «Микробиота», Сергиев Посад
ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет», Киров

Экспериментальная оценка эффективности метаболического пробиотика Хилак форте при дисбиозе кишечника

Чичерин Игорь Юрьевич / rpatron@mail.ru

Ключевые слова: пробиотик, пребиотик, метабиотик, дисбиоз, микробиота, коррекция нарушений микробиоценоза.

Резюме: Приведены результаты экспериментального изучения роста и размножения пробиотических микроорганизмов в жидкой питательной среде с добавлением Хилак форте, а также эффективности восстановления микробиоты кишечника у экспериментальных животных с индуцированным дисбиозом при энтеральном введении Хилак форте. Проведен сравнительный анализ клинических испытаний Хилак форте и результатов экспериментального изучения пробиотика в опытах на животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом по эффективности восстановления нарушений микробиоценоза кишечника.

I.Yu. Chicherin, I.P. Pogorelsky, I.A. Lundovskikh, I.V. Darmov, D.A. Solyanik
Scientific society «Microbiota», Sergiev Posad
Vyatka State University, Kirov

Experimental evaluation of the efficiency of the metabolic probiotic Hilak forte in intestinal dysbiosis

Chicherin Igor Yurievich / rpatron@mail.ru

Key words: probiotic, prebiotic, metabiotic, dysbiosis, microbiota, correction of microbiocenosis.

Summary: The results are presented of the experimental study of the growth and reproduction of probiotic microorganisms in a liquid nutrient medium supplemented with Hilak forte, as well as the efficiency of the recovery of the intestine microbiota in experimental animals with induced dysbiosis when Hilak forte is administered enterally. The comparative analysis has been performed of clinical trials of Hilak forte and the results of the experimental study of probiotics in animals with antibiotic-associated dysbiosis on the efficiency of the recovery of the intestine microbiocenosis disorders.

Среди средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника различного происхождения ведущими на протяжении многих десятилетий являются пробиотики. Они традицион-

но, по мнению В.А. Шендеров [1], рассматривались и рассматриваются как безопасные и оказывающие полезное действие. Результатом естественной эволюции концепции пробиоти-

ков являются метабиотики, которые приходят на смену пробиотикам. Сами метабиотики, будучи структурными компонентами пробиотических микроорганизмов (метаболиты, сигналь-

ные молекулы известной структуры и т.д.), могут положительно влиять на физиологические функции организма и активность кишечной микрофлоры. Поскольку активность кишечной микрофлоры во многом определяет здоровье или болезнь человека, регуляция микробиоценоза кишечника является актуальной проблемой медицины и биологии [1, 2].

Наиболее известным пробиотиком метаболитного типа, довольно активно заявившем о себе на рынке, является Хилак форте — противодиарейное средство, входящее в соответствующую фармакологическую группу [3]. Согласно Инструкции по медицинскому применению препарата [3], действующими веществами являются «беззародышевые» (очевидно, лишённые жизнеспособных микроорганизмов) водные субстраты продуктов обмена веществ *Escherichia coli* DSM 4087, *Streptococcus faecalis* DSM 4086, *Lactobacillus acidophilus* DSM 4149, *Lactobacillus helveticus* DSM 4183. В составе препарата присутствуют вспомогательные вещества: натрия фосфат гептагидрат, калия фосфат, молочная кислота, фосфорная кислота концентрированная, калия сорбат, лимонной кислоты моногидрат.

Благодаря содержанию в составе препарата продуктов метаболизма бактерий Хилак форте способствует восстановлению нормальной микрофлоры кишечника биологическим путем и позволяет сохранить физиологические и биохимические функции слизистой оболочки кишечника. Входящая в состав препарата биосинтетическая молочная кислота и ее буферные соли восстанавливают физиологическую кислотность желудочно-кишечного тракта. На фоне роста облигатных микроорганизмов под влиянием Хилак форте нормализуется синтез витаминов групп В и К. Короткоцепочечные жирные кислоты в составе препарата обеспечивают восстановление баланса кишечной микрофлоры при инфекционных заболеваниях кишечника, стимулируют регенерацию эпителиальных клеток кишечной стенки, вос-

станавливают нарушенный водно-электролитный баланс в просвете кишки.

В обзоре, посвященном анализу публикаций, содержащих оценки лечебных свойств и механизма действия Хилак форте, В.М. Бондаренко [4] указывает, что основные механизмы лечебного действия препарата опосредуются широким спектром разнообразных взаимосвязанных эффектов, включающих нормализацию процессов электролитического обмена и окислительного фосфорилирования, синтеза витаминов групп В и К, восстановление нарушенных иммунологических реакций.

Многогранное положительное действие пробиотика Хилак форте отмечает Н.И. Урсова [5] и так же, как В.М. Бондаренко [4], указывая на высокую клиническую эффективность, констатирует минимизацию материальных издержек, связанных с приобретением препарата.

Как и другие клиницисты, проводившие медико-лабораторную оценку эффективности Хилак форте в режиме профилактики дисбиоза и в комплексном лечении острой кишечной инфекции и хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта, В.М. Бондаренко [4] и Н.И. Урсова [5], ссылаясь на опубликованные результаты исследований, отмечают позитивное действие препарата на клиническое состояние и процессы репарации в слизистой оболочке толстой кишки у пациентов, а также элиминирующий эффект пробиотика в отношении клебсиелл, цитробактера, грибов рода *Candida*, сальмонелл.

Особо следует отметить применение пробиотика Хилак форте в педиатрии. Так, в исследованиях Л.Н. Мазанковой с соавт. [6] было отмечено достоверно более быстрое и стойкое купирование основных проявлений острой кишечной инфекции у детей, сокращение сроков пребывания в стационаре.

Авторы констатируют отсутствие изменений в составе микрофлоры кишечника при одновременном улучшении метаболического статуса с нормализацией общего уровня летучих

жирных кислот и их соотношений [6]. С учетом того, что у детей в силу различных причин довольно быстро может измениться не только состав, но и функция кишечной микрофлоры [7], становится понятным стремление стимулировать функциональную активность ведущих представителей кишечной микрофлоры, используя хорошо разрекламированные препараты коррекции микробиоценоза, испытание которых проведено в ведущих медицинских центрах.

В то же время следует подчеркнуть, что при безусловной важности констатации положительных эффектов пробиотика Хилак форте на здоровье пациентов из поля зрения клиницистов ускользает сам факт воздействия пробиотика на микрофлору кишечника, в частности на ведущих ее представителей, так называемых бенефициантов, для которых, собственно, и создаются пробиотики.

Ведь за фразой «Хилак форте восстанавливает микробиоценоз...» [5] процесс восстановления микрофлоры больше скрыт, чем продемонстрирован. Не вносит ясности и следующее предположение: «В отличие от классического Quorum Sensing метаболитная регуляция пробиотиками метаболитного типа обеспечивает рост популяции важных для организма микроорганизмов, определяет межвидовые контакты бактерий и, по-видимому, не нуждается в наличии специализированного регулятора» [4].

Да и сама статья, из которой взята эта фраза, озаглавлена «Стабилизирующее действие метаболитного пробиотика Хилак форте на нормальную микрофлору кишечника». Если подразумевается здоровый организм, то микробно-тканевый комплекс и без Хилак форте обеспечивает динамичное равновесие кишечной микрофлоры, а в больном организме с развившимся дисбиозом стабилизация с помощью Хилак форте остатков представителей нормобиоты только ухудшит состояние пациента.

В сложившейся ситуации Н.И. Урсова [8] предлагает обратить самое

серьезное внимание не только на укрепление научной базы исследований, но и на плановость и организацию самих исследований в области пробиотикотерапии дисбиозов. Очевидно, признается сам факт наличия пробела в экспериментальном изучении проблемы коррекции дисбиоза с привлечением различных моделей оценки эффективности пробиотиков еще до стадии их широкомасштабного производства и внедрения в лечебную практику.

В итоге только прямые опыты на лабораторных животных могут дать ответ на вопрос, регулируют ли пробиотики симбиотные отношения хозяина и его кишечной микробиоты, а также имеются или нет побочные эффекты у этих препаратов.

Цель исследования — экспериментальное изучение эффективности Хилак форте в коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом.

Материалы и методы исследования

В работе использовали пробиотический препарат Хилак форте (производитель «Меркле ГмбХ», г. Блаубойрен, Германия). Лекарственная форма — капли для приема внутрь.

В экспериментах *in vitro* в качестве контроля применяли биокомплексы Нормофлорины, созданные на основе культур лактобацилл и бифидобактерий (производитель ООО «Бифилюкс», г. Москва, Россия), а в экспериментах *in vivo* в качестве контроля применяли пребиотик Стимбифид, содержащий инулин, олигофруктозу, витаминно-минеральный комплекс (производитель ООО «МедСтар», Россия).

Антибактериальную активность пробиотических препаратов Хилак форте и Нормофлорин исследовали с использованием чистых культур 11 клинических изолятов — стафилококков, кандид, псевдомонад, протей, кишечной палочки, цитробактера, энтеробактера, бацилл, а также *Helicobacter pylori*.

Выращивание культур клинических изолятов, лактобацилл и бифидобактерий проводили на питательных средах рекомендованного состава (9), бактерий *H. pylori* — на питательной среде Шедлера. Лактобациллы и бифидобактерии культивировали в микроаэрофильных условиях с использованием системы для анаэробного культивирования (HiMedia Laboratories Pvt. LND, г. Мумбаи, Индия).

Количество живых микроорганизмов в суспензиях определяли высевом соответствующих десятикратных серийных разведений исследуемых суспензий на плотные питательные среды в чашках Петри и подсчетом выросших колоний по истечении времени инкубирования колоний. Общее количество бактерий в пересчете на 1 г фекалий животных определяли подсчетом в камере Горяева (модель 851, ЛПО «Красногвардеец», Россия)

Антибактериальную активность пробиотиков Хилак форте и Нормофлоринов определяли по методу J.H. Jorgensen и J.D. Turnidge [10].

Антибиотико-ассоциированный дисбиоз у лабораторных животных [11] воспроизводили путем перорального введения гентамицина (продукция ОАО «Биохим», Россия).

В работе использовали прошедших акклиматизацию в виварии конвенциональных белых мышей обоего пола, массой 18-20 г, морских свинок, беспородных, обоего пола, массой 250-300 г.

Статистическую обработку результатов исследований проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководстве И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [12].

Результаты исследования

Для проведения экспериментов по оценке влияния пробиотика Хилак форте на рост и размножение пробиотических микроорганизмов готовили жидкую питательную среду, содержащую пептон, дрожжевой экстракт, витамины (B1, B5), галактозу, хлорид натрия, стимуляторы роста (гемин и экстракт бактерий «кормилок»).

Концентрация Хилак форте в среде культивирования была адекватна той, которая рекомендована в Инструкции по медицинскому применению препарата. Посевная доза бифидобактерий, лактобацилл, эшерихий и смешанной культуры составляла $(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^6$ КОЕ-мл⁻¹. Выращивание проводили в течение 72 часов.

Результаты экспериментов представлены в табл. 1, из них следует, что пробиотик Хилак форте практически не оказывает никакого влияния на рост и размножение бифидобактерий в сравнении с аналогичными показателями, полученными с использованием среды культивирования без пробиотика.

Лактобациллы в среде культивирования, не содержащей Хилак форте, чувствуют себя более комфортно, а эшерихии на 3-и сутки культивирования явно опережают по численности бактерии, культивируемые в питательной среде с Хилак форте.

Для смешанной культуры, состоящей из ведущих представителей кишечной микробиоты белых мышей, питательная среда с Хилак форте является менее предпочтительной, чем исходная жидкая питательная, не содержащая метаболитный пробиотик.

Таким образом, в настоящих экспериментах со всей очевидностью продемонстрировано, что пробиотик Хилак форте не является адекватной системой метаболической регуляции жизнедеятельности пробиотических микроорганизмов.

Изучение способности пробиотика Хилак форте по восстановлению микробиоценоза кишечника было проведено на лабораторных животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом. Для инициации дисбиоза белым мышам и морским свинкам вводили перорально дважды в сутки гентамицин по 3 и 30 мг соответственно.

До введения антибиотика и в последующем до 7-го дня включительно у животных отбирали фекалии для бактериологического изучения и определения содержания микроорганизмов в пересчете на 1 г фекалий (КОЕ-г⁻¹). По

Таблица 1.

Динамика концентрации микроорганизмов в среде культивирования, содержащей пробиотик Хилак форте ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=10)

Микроорганизмы	Продолжительность культивирования, ч	Содержание бактерий на ... ч эксперимента, КОЕ-мл ⁻¹	
		среда культивирования без пробиотика	среда культивирования, содержащая пробиотик
Бифидобактерии	24	(1,1±0,5)·10 ⁸	(1,6±0,7)·10 ⁸
	48	(2,6±0,6)·10 ⁸	(5,2±0,6)·10 ⁸
	72	(6,5±0,7)·10 ⁸	(5,8±0,7)·10 ⁸
Лактобациллы	24	(8,1±0,6)·10 ⁸	(3,2±0,6)·10 ⁸
	48	(8,2±0,7)·10 ⁸	(3,3±0,7)·10 ⁸
	72	(9,3±0,6)·10 ⁸	(4,0±0,6)·10 ⁸
Эшерихии	24	(1,5±0,7)·10 ⁸	(1,7±0,7)·10 ⁸
	48	(9,4±0,6)·10 ⁸	(3,9±0,8)·10 ⁸
	72	(1,6±0,6)·10 ⁹	(5,6±0,6)·10 ⁸
Смешанная культура	24	(1,5±0,6)·10 ⁹	(1,0±0,6)·10 ⁸
	48	(1,9±0,7)·10 ⁹	(6,2±0,7)·10 ⁸
	72	(2,1±0,8)·10 ⁹	(9,0±0,8)·10 ⁸

окончании введения животным гентамицина общее количество микроорганизмов у белых мышей снизилось до уровня (1,2-1,3)·10⁵ КОЕ·г⁻¹, у морских свинок до уровня (3,5-3,6)·10³ КОЕ·г⁻¹.

Количество бифидобактерий и лактобацилл в 1 г фекалий животных приведено в табл. 2 и 3. В целом данные бактериологического исследования фекалий животных свидетельствуют о глубоких дисбиотических изменениях в составе кишечной микробиоты, соответствующих 3-й степени нарушения по классификации И.К. Максимова [13].

Все животные с антибиотико-ассоцированным дисбиозом были разделены в последующем на группы: животным двух опытных групп вводи-

ли перорально пробиотик Хилак форте и пребиотик Стимбифид, животные третьей (контрольной) группы находились на обычном пищевом рационе, обеспечивающем самовосстановление микробиоты кишечника. Еще одну контрольную группу составляли здоровые интактные животные.

Животным опытных групп с антибиотико-ассоцированным дисбиозом пробиотик Хилак форте и пребиотик Стимбифид вводили в дозах, эквивалентных тем, которые рекомендованы Инструкциями по медицинскому применению. Результаты экспериментов представлены в табл. 2 и 3.

Из представленных в табл. 2 и 3 результатов следует, что пробиотик Хилак форте при пероральном введении

белым мышам и морским свинкам не обладает декларируемыми в Инструкции по медицинскому применению характеристиками, и по такому показателю, как скорость восстановления общего количества микроорганизмов, а также бифидобактерий и лактобацилл, пробиотик Хилак форте явно уступает пребиотику Стимбифид. О том, что пребиотик Стимбифид более эффективно, чем Хилак форте, восстанавливает микробиоту кишечника у подопытных животных, свидетельствуют сроки устойчивого появления в фекалиях животных ведущих представителей микробиоты, а также масса и цвет фекалий. У животных, получавших Хилак форте, фекалии даже после завершения эксперимента сохраняли неестественный желтый или желто-зеленый цвет, а их масса была на 30-40% меньше массы фекалий животных, получавших пребиотик Стимбифид, или интактных животных.

Важно отметить и другое. У животных, получавших пробиотик Стимбифид, масса фекалий в конце эксперимента превышала массу фекалий интактных животных. Это однозначно можно связать с тем, что входящие в состав пребиотика Стимбифид фруктоолиго- и фруктополисахариды увеличивают массу кишечного содержимого именно за счет бактериальной биомассы.

Относительно цвета фекалий нужно сказать следующее. Цветовое изменение фекалий играет диагностическую роль: желто-зеленый цвет разной насыщенности свидетельствует о разной степени дисбиоза. Когда съеденная пища перестает нормально перевариваться, возникают процессы брожения и гниения с образованием веществ, меняющих окраску фекалий.

Характеристика пробиотической эффективности Хилак форте в эксперименте была бы неполной без оценки антибактериальной активности пробиотика в отношении микроорганизмов клинических изолятов. Из 11 чистых культур только 2 культуры стафилококков (*S.epidermidis*, *S.aureus*) оказались чувствительными к Хилак форте

Таблица 2.

Влияние пробиотика Хилак форте на скорость восстановления кишечной микробиоты у конвенциональных белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбиозом ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=10)

Коррекция дисбиоза	Микроорганизмы кишечной микробиоты	Содержание бактерий в 1 г фекалий, КОЕ·г ⁻¹		Скорость восстановления микробиоты		Сроки устойчивого появления представителей микробиоты, сутки
		начало эксперимента	окончание эксперимента	КОЕ·г ⁻¹ ·сутки ⁻¹	кратность к контролю	
Пробиотик Хилак форте	Общее количество	(1,2±0,7)·10 ⁵	(2,4±0,7)·10 ⁷	1,7·10 ⁶	19,6	14
	Бифидобактерии	(1,4±0,6)·10 ²	(8,6±0,8)·10 ⁵	6,6·10 ⁴	35,0	13
	Лактобациллы	(1,2±0,5)·10 ⁴	(9,6±0,7)·10 ⁶	6,8·10 ⁵	36,0	14
Пребиотик Стимбифид	Общее количество	(1,3±0,7)·10 ⁵	(1,1±0,6)·10 ¹⁰	9,9·10 ⁸	11494	11
	Бифидобактерии	(1,6±0,6)·10 ²	(3,1±0,7)·10 ⁷	3,1·10 ⁶	1632	10
	Лактобациллы	(1,4±0,5)·10 ⁴	(5,0±0,8)·10 ⁸	4,5·10 ⁷	2392	11
Само-восстановление микробиоты (контроль)	Общее количество	(1,2±0,6)·10 ⁵	(1,6±0,7)·10 ⁶	8,7·10 ⁴	1	17
	Бифидобактерии	(1,4±0,6)·10 ²	(3,1±0,5)·10 ⁴	1,9·10 ³	1	16
	Лактобациллы	(1,3±0,7)·10 ⁴	(3,2±0,7)·10 ⁵	1,9·10 ⁴	1	16
Интактные животные (контроль)	Общее количество	(6,3±0,7)·10 ⁹	(6,8±0,8)·10 ⁹	н	н	Устойчивое биоразнообразие микробиоты

Примечание: «н» — определение не проводили

Таблица 3.

Влияние пробиотика Хилак форте на скорость восстановления кишечной микробиоты у морских свинок с антибиотико-ассоциированным дисбиозом ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=10)

Коррекция дисбиоза	Микроорганизмы кишечной микробиоты	Содержание бактерий в 1 г фекалий, КОЕ·г ⁻¹		Скорость восстановления микробиоты		Сроки устойчивого появления представителей микробиоты, сутки
		начало эксперимента	окончание эксперимента	КОЕ·г ⁻¹ ·сутки ⁻¹	кратность к контролю	
Пробиотик Хилак форте	Общее количество	(3,6±0,7)·10 ³	(3,9±0,8)·10 ⁷	3,2·10 ⁶	5,3	12
	Бифидобактерии	(1,9±0,8)·10 ²	(1,2±0,7)·10 ⁵	1,1·10 ⁴	6,9	11
	Лактобациллы	(3,7±0,7)·10 ¹	(1,9±0,8)·10 ⁴	1,6·10 ³	0,57	12
Пребиотик Стимбифид	Общее количество	(3,5±0,6)·10 ³	(5,4±0,6)·10 ⁹	5,9·10 ⁸	984	9
	Бифидобактерии	(1,8±0,7)·10 ²	(3,8±0,7)·10 ⁷	4,7·10 ⁶	2937	8
	Лактобациллы	(4,6±0,8)·10 ¹	(3,1±0,6)·10 ⁶	3,4·10 ⁵	121	9
Само-восстановление микробиоты (контроль)	Общее количество	(3,6±0,5)·10 ³	(8,6±0,7)·10 ⁶	6,1·10 ⁵	1	14
	Бифидобактерии	(2,4±0,6)·10 ²	(2,1±0,6)·10 ⁴	1,6·10 ³	1	13
	Лактобациллы	(3,5±0,7)·10 ¹	(3,9±0,7)·10 ⁴	2,8·10 ³	1	14
Интактные животные (контроль)	Общее количество	(9,6±0,7)·10 ⁸	(9,8±0,8)·10 ⁸	н	н	Устойчивое биоразнообразие микробиоты

Примечание: «н» — определение не проводили

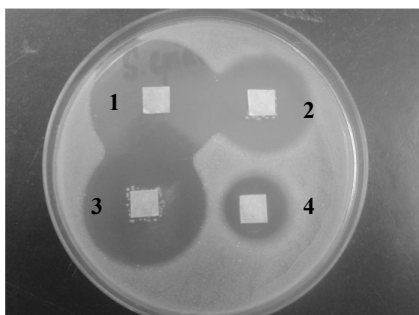
(см. рис.). Зоны ингибирования роста составили для эпидермального стафилококка 18 мм в диаметре, для золотистого стафилококка — 19 мм в диаметре. В аналогичных условиях диаметр зон ингибирования роста, сформированных под влиянием биокомплексов Нормофлорины (Л, Б, Д), достигал 27-37 мм.

Культуры остальных микроорганизмов: сапрофитного стафилококка, кандид, псевдомонад, протей, кишечной палочки, цитробактера, энтеробактера, бацилл, а также *H.pylori* — были практически нечувствительны к Хилак форте.

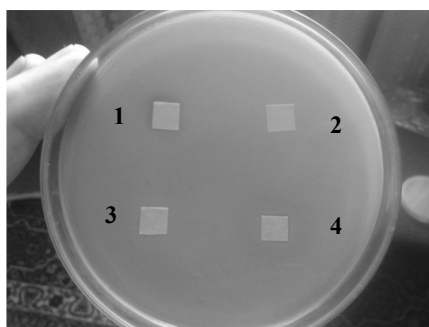
Рисунок.

Зоны ингибирования роста *S.epidermidis* (А) и *H.pylori* (В)

А



Б



Примечание:

- 1 — Нормофлорин-Л;
- 2 — Нормофлорин-Б;
- 3 — Нормофлорин-Д;
- 4 — Хилак форте

Эти результаты, как и результаты, полученные в опытах на эксперимен-

тальных животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом, свидетельствуют о том, что по мере углубления изучения свойств метаболитного пробиотика Хилак форте выясняются характеристики препарата, о которых врач не знает, но они могут повлиять на течение заболевания.

Однако, согласно Инструкции по медицинскому применению пробиотика [3], именно лечащий врач должен принять решение о назначении препарата Хилак форте.

Обсуждение полученных результатов

Полученные результаты по коррекции микробиоценоза кишечника у экспериментальных животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом не следует интерпретировать таким образом, что метаболитный пробиотик Хилак форте не стимулирует собственную микробиоту кишечника. Но в то же время очевидно, что пребиотик Стимбифид делает это лучше и более эффективно, создавая условия для увеличения численности естественной микробиоты кишечника.

Экспериментальные данные, полученные в опытах на животных с индуцированным дисбиозом, во многом согласуются с данными клинических наблюдений эффективности Хилак форте при комплексном лечении больных острыми кишечными инфекциями и хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта с явлениями дисбиоза [14], свидетельствующими, что после лечения нормобиоценоз объективно наблюдается у 43,3% пациентов, принимающих Хилак форте, и у 14,3% в группе сравнения. Какими бы ни были объяснения, но факт остается фактом: более чем у половины больных нормализации микробиоценоза кишечника под воздействием Хилак форте не наблюдалось.

А ведь в обзоре В.М. Бондаренко [4], в котором обобщены данные исследований отечественных и зарубежных авторов, прямо говорится о том, что острые и хронические желудочно-кишечные заболевания, особенно хро-

нический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированные с *H.pylori*, в 100% случаев ведут к усугублению дисбиотических явлений.

Таким образом, с одной стороны, выраженное дисбиотическое состояние, а с другой, предлагаемый в лечебно-профилактических целях недостаточно эффективный пробиотик Хилак форте. И как тогда расценивать данные клиницистов об элиминирующем эффекте Хилак форте в отношении микроорганизмов, которые в эксперименте *in vitro* устойчивы к данному пробиотику?

И если заболевания желудочно-кишечного тракта, в том числе и хеликобактериоз, фактически во всех случаях сопровождаются выраженным нарушением микробиоценоза кишечника, зачем рекомендует производитель метаболитного пробиотика Хилак форте этот препарат в качестве спасительного противодиарейного средства? Ведь такая позиция может полностью дискредитировать саму идею метабитиков и целое перспективное биотехнологическое направление.

Необходимо было давно расставить все точки над «и»: место экспериментов в лаборатории, а не на рынках и в лечебно-профилактических учреждениях. Безусловно, проведение экспериментов, а тем более с использованием лабораторных животных, этап довольно длительный и трудоемкий. Но только таким образом можно получить ответы, возникающие в ходе изучения такой сложной проблемы, как дисбиоз.

В частности в экспериментах на белых мышах была изучена возможность предотвращения развития псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, а также дисбиотических изменений в составе кишечной микробиоты, при пероральном введении суспензий возбудителей инфекций [15, 16].

Важным в этих экспериментах было то, что надосадочная жидкость нативной культуры пробиотических лактобацилл *Lactobacillus plantarum* 8P — АЗ, выделенных из коммерческого пробиотика Лактобактерин, содержащая микробные метаболиты, обладала ан-

тагонистической активностью против возбудителей и полностью предотвращала генерализацию псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, а также развитие дисбиотических нарушений в консорциуме кишечной микробиоты.

Определенный методом газожидкостной хроматографии компонентный состав надосадочной жидкости культуры *L. plantarum* 8P — A3 показал наличие молочной кислоты, составлявшей 70% от общего количества метаболитов, солей фосфорной кислоты (14%), других компонентов (аминокислоты, карбоновые кислоты, жирные кислоты, многоатомный спирт, сахара и др.), составлявших в сумме 1% всех метаболитов лактобацилл [15, 16].

Ссылаясь на полученные результаты, важно подчеркнуть, что лечебно-профилактический потенциал лактобацилл далеко не исчерпан, в том числе и в направлении практического использования синтезируемых ими метаболитов.

Это имеет принципиальное значение, поскольку два из четырех штаммов продуцентов пробиотика Хилак форте являются лактобациллами, чьи биологические свойства, как и свойства двух других штаммов (кишечной палочки и стрептококков), в эксперименте, по-видимому, не были исследованы, хотя сам препарат давно представлен на рынке пробиотической продукции.

Действительно, пробиотик Хилак форте является первым препаратом, производимым по технологии, ориентированной на включение в состав препарата микробных метаболитов, которые только в последние несколько лет стали рассматриваться как метабиотики или фармабиотики.

Очевидным также является и то, что в течение всех прошедших лет у производителей пробиотиков, у врачей и у пациентов сформировалось представление о том, что пробиотики, созданные на основе микроорганизмов, в основном бифидобактерий и лактобацилл, выделенных из нормальной микробиоты людей, должны обладать лечебно-профилактической активностью.

Данное априорное представление нашло отражение в отраслевом стан-

дарте «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОС 91599.11.0004 — 2003), утвержденном Приказом №231 МЗ РФ от 09.06.2003, согласно которому пробиотикотерапия призвана восполнять сниженный уровень микроорганизмов кишечного микробиоза. На основании клинических исследований публикуются данные, доказывающие без должного экспериментального обоснования необходимость и целесообразность включения пробиотиков в схемы лечения большинства заболеваний. Однако и до настоящего времени не удается решить проблему коррекции дисбиотических нарушений кишечной микробиоты.

Проведенная экспериментальная оценка эффективности метаболитного пробиотика Хилак форте при дисбиозе кишечника у животных продемонстрировала необходимость планомерного экспериментального изучения разрабатываемых пробиотиков или создаваемых на их основе метабиотиков еще на этапе, предшествующем их широкому внедрению в клиническую практику.

Это позволит обеспечить использование богатого естественного потенциала пробиотических микроорганизмов и получить на этой основе препараты с доказанными специфическими полезными функциями.

Данный подход снижает риски возникновения побочных и нежелательных эффектов, связанных с применением препаратов, и повышает конкурентоспособность последних. С другой стороны, лечащий врач при сохраняющейся индивидуальной ответственности будет более свободным в принятии конкретного решения по лечению пациентов.

Выводы

1. В опытах *in vitro* и *in vivo* проведено экспериментальное изучение влияния метаболитного пробиотика Хилак форте на рост и размножение пробиотических микроорганизмов в жидкой питательной среде и эффективность восстановления кишечной микробиоты животных с антибиотикоассоциированным дисбиозом.

2. Пробиотик Хилак форте, добавленный в среду культивирования полезных пробиотических микроорганизмов, практически не оказывает стимулирующего влияния на бифидобактерии. Лактобациллы, выращенные в среде культивирования с добавлением Хилак форте, находятся в состоянии бактериостаза, а на эшерихии и особенно смешанную культуру кишечной микробиоты пробиотик оказывает выраженное угнетающее действие.

3. В экспериментах, выполненных с использованием диско-диффузионного метода, выявлена антибактериальная активность пробиотика Хилак форте только в отношении эпидермального и золотистого стафилококков, а культуры остальных исследованных микроорганизмов: сапрофитного стафилококка, кандид, псевдомонад, протей, кишечной палочки, цитробактера, энтеробактера, бацилл и хеликобактера — оказались к нему нечувствительными.

4. В опытах на конвенциональных белых мышках и морских свинках с антибиотикоассоциированным дисбиозом перорально вводимый пробиотик Хилак форте обладал низкой эффективностью восстановления как общего количества микробиоты, так и бифидобактерий и лактобацилл, уступая пребиотику Стимбифид по скорости восстановления общего количества микробиоты у белых мышей в 586 раз, а у морских свинок в 186 раз.

5. Проведенная экспериментальная оценка эффективности восстановления микробиоты кишечника у животных с индуцированным дисбиозом при пероральном введении метаболитного пробиотика Хилак форте, а также антибактериальной активности пробиотика и его влияния на ростовые характеристики пробиотических микроорганизмов, однозначно свидетельствуют о необходимости полноценного экспериментального изучения свойств разрабатываемых пробиотических препаратов перед их полномасштабными клиническими испытаниями.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shenderov V.A. Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception. *Microbiol Ecology in Health&Disease* 2013; V. 24: 20399 — <http://dx.20i.org/10.3402/mehd.v24io.20399>.
2. Neish, A.S. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology* 2009; 136: 65-80.
3. Инструкция по медицинскому применению препарата Хилак форте. Регистрационное удостоверение П № 014917/01: «Меркле ГмбХ, г. Блаубойрен, Германия.
4. Бондаренко, В.М. Стабилизирующее действие метаболического пробиотика Хилак форте на нормальную микрофлору кишечника. *Фарматека* 2005; 1(97) — <http://www.pharmateca.ru/ru/archive/article/5869>.
5. Урсова Н.И. Актуальные и нерешенные проблемы пробиотикотерапии. *Лечащий врач* 2013; 8. <http://www.lvrach.ru/2013/08/154357831/>.
6. Мазанкова Л.Н., Ильина Н.И., Кондракова О.А., Затевалов А.М. Оценка нарушений микробиоценоза при острых кишечных инфекциях у детей и их коррекция. *Трудный пациент* 2004; 2 (9): 11-16.
7. Постникова Е.А., Пикина А.П., Кафорская Л.И., Ефимов Б.А. Изучение качественного и количественного состава микрофлоры кишечника у клинически здоровых детей в раннем возрасте. *Журн. микробиол.* 2004; 1: 67-69.
8. Урсова Н.И. Терапевтический потенциал современных пробиотиков. *Журн. международной медицины. Педиатрия.* 2013; 4 (5): 79-87.
9. Бондаренко В.М., Лиходед В.Г. Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника: методические рекомендации. — М.: ГУ НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, 2007; 70 с.
10. Jorgensen J.H., Turnidge J.D. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *Manual of clinical microbiology.* 9th-ed ASM Press Press Washington; 2007: 1152-1171.
11. Патент № 2477894 G09B 23/28. Способ моделирования дисбактериоза кишечника у лабораторных животных / И.В. Дармов, И.Ю. Чичерин, А.С. Ердякова, И.П. Погорельский, И.А. Лундовских; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет»; опублик. 20.03.2013; бюл. № 8.
12. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. — Л. Медгиз, 1962; 280 с.
13. Максимов И.К. Нарушение микробиоценоза на фоне полихимиотерапии у больных опухолевыми заболеваниями системы крови: новые методы диагностики и коррекции. *Фарматека.* 2004; 13: 79-84.
14. Грачева Н.М., Леонтьева Н.И., Щербаков И.Т., Паргин О.С. Хилак форте в комплексном лечении больных острыми кишечными инфекциями и хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта с явлениями дисбактериоза. *Consilium Mediaem.* 2004; 1: 31-34.
15. Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундовских И.А., Дармов И.В., Маракулин И.В. Экспериментальный псевдотуберкулез: оценка возможности профилактики, лечения и коррекции дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры. *Журн. Инфектологии.* 2012; 4 (4): 71-79.
16. Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундовских И.А., Бессолицына Е.А., Дармов И.В., Шабалина М.Р. Колонизационная резистентность слизистой оболочки кишечника при экспериментальном иерсиниозе. *Журн. инфектологии.* 2013; 5 (1): 75-82.