

4. Сметник З. П., Тумилович Л. Г. Неоперативная гинекология: Рук-во для врачей. — М.: Мед. информ. агентство, 1998. — 592 с.

5. Seyed-Behnamedin Jameie, Mohammad-Hosein Noyan-Ashraf, Gila Behzadi. Ovariectomy reduces the dendritic spine density of the dorsal raphe neurons in the adult rat // Archives of Iranian Medicine. — 2004. — Vol. 7, N 2. — P. 122-127.

6. Македон А. Б., Моисеев И. Н., Скиба В. Я. Морфометрическое исследование эпителиоцитов слизистой оболочки щеки крыс после овариэктомии и введения ЕКСО // Віс-

ник стоматології. — 2004. — № 1. — С. 11-15.

7. Ташкэ К. Введение в количественную цитогистологическую морфологию. — Изд-во Акад. Соц. республики Румынии, 1980. — 191 с.

8. Лакин Г. Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.

9. Байбабаев А. Л. Количественные цитологические нормативы эпителии слизистой оболочки ротовой полости у здоровых людей // Здоровоохранение Таджикистана. — 1985. — № 5. — С. 51-54.

10. Цитологическая реактивность онкологического больного

/ Под ред. К. П. Ганиной. — К.: Наук. думка, 1995. — 150 с.

11. Оценка уровня дифференцировки клеток эпителии в отпечатках с разных участков слизистой оболочки полости рта у здоровых людей / Г. В. Банченко, О. Г. Аюпян, А. А. Агаджанян, И. А. Быкова // Стоматология. — 1997. — № 1. — С. 12-14.

12. Урбанович В. И., Леонтьев А. С. Кариометрический анализ эпителиоцитов десны в норме, при патологии и эксперименте // Морфология. — 1996. — № 2. — С. 97.

13. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: Рук. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.

УДК 616.21-002.828-08:579.864

О. Г. Вольська, Л. М. Шинкаренко, І. С. Зарицька, Д. Д. Заболотна
**ВИВЧЕННЯ МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ
ЛАКТОБАКТЕРІЙ У ПРОФІЛАКТИЦІ ТА ЛІКУВАННІ
КАНДИДОЗІВ ЛОР-ОРГАНІВ**

Інститут оториноларингології ім. проф. О. С. Коломийченка АМН України, Київ

Широке використання антибіотиків й антимікотиків призвело до виникнення проблем, пов'язаних із резистентністю умовно-патогенних мікроорганізмів до антимікробних препаратів. Виникла необхідність у використанні альтернативних підходів до запобігання та лікування інфекцій. Один із таких підходів — це використання пробіотиків — живих мікробів, зокрема лактобактерій, корисних для організму хазяїна. Накопичуються дані, що застосування пробіотиків може стати життєздатною альтернативою антимікробним препаратам чи добавкам до них для запобігання та лікування певних інфекцій. В останні роки з'явилася низка нових пробіотичних продуктів. Лактобактерії, що входять до їх складу, добре виживають *in vivo* і виявляють антагоністичні властивості щодо важливих патогенів [1].

Останнім часом трапляються поодинокі повідомлення про використання лактобактерійних препаратів при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів [2].

Носоглотка є початковим відділом верхніх дихальних шляхів, де постійно персистує анаеробна та мікроаерофільна мікрофлора. Відмітною особливістю цього відділу є формування ценозів за участі лактобактерій [3].

Один із механізмів контролю мікробіоценозів й антагоністичної дії лактобактерій пов'язаний із продукуванням ними в процесі метаболізму молочної кислоти й антибіотикоподібних речовин, внаслідок чого формується низький рівень рН слизових оболонок. Так, в експериментах *in vitro* було показано, що закиснення різних середовищ у процесі росту лактобактерій пригнічувало розмноження патогенних

мікроорганізмів — грибів роду *Candida spp.* та ін. [4].

Нині, за даними різних авторів, відомо понад 500 тис. видів мікроскопічних грибів, і тільки приблизно 50 із них є строго патогенними для людини. За даними ВООЗ, 1/5 населення землі страждає на грибкові захворювання. Зростання захворюваності на мікози пов'язане насамперед зі зниженням імунологічної резистентності організму, зумовленої забрудненням навколишнього середовища, необґрунтованим і тривалим застосуванням антибактеріальних препаратів, що порушують мікробіоценоз організму, а також кортикостероїдів та імунодепресантів [5–9].

Патогенні для людини гриби можна розділити на дві групи: первинні й опортуністичні патогени. Первинні патогени (*Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* та ін.) можуть стати причиною захворю-



вання в здорової людини, тимчасом як опортуністичні патогени (*Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Penicillium spp.*) звичайно нешкідливі для здорових людей і стають патогенними тільки у разі зниження імунологічної резистентності. Для умовно-патогенних грибів (УПГ) характерна здатність до тривалого контакту зі шкірними покривами та слизовими оболонками людини без ознак патологічних змін, що виявляються лише за наявності додаткових факторів, які пригнічують місцеві та системні захисні механізми хазяїна.

Лікування кандидозів сьогодні стає дуже актуальною проблемою в зв'язку зі збільшенням захворюваності на мікози та поширеності антимікотостійких штамів *Candida spp.* За останні роки значно змінився видовий склад грибів роду *Candida*, виділених від хворих із мікозами ЛОР-органів. Так, частка *C. albicans* становить 47,37 %, на штам *C. non-albicans* припадає 52,63 % (*C. tropicalis*, *C. krusei* та ін.). За останні десятиріччя відмічається тенденція до збільшення частоти розвитку мікозів ЛОР-органів [10]. З огляду на дані [10–15] про те, що понад 35 % збудників хронічних синуситів — це гриби роду *Candida spp.*, при ураженні глотки кількість яких зростає до 65 % від усіх мікозів, а при хронічному зовнішньому отиті дорівнює близько 30 %, та їхню високу чутливість до дії лактобактерій, стає зрозумілим перспективність використання препаратів на основі лактобактерій у терапії захворювань верхніх дихальних шляхів.

У зв'язку з ростом грибкової патології у структурі лор-захворюваності [16–17] доцільним є пошук найбільш безпечних способів лікування кандидозів, що відповідають основним сучасним вимогам.

В. Г. Елмер (Вашингтонський університет, США) наво-

дить позитивні дані про зниження частоти інфекцій дихальних шляхів у дітей, що приймали *Lactobacillus GG* із молоком, порівняно із застосуванням плацебо. За інформацією цього автора, це поки що єдине дослідження, результати якого підтверджено іншими незалежними дослідниками для оцінки виразності ефекту, визначення адекватних доз і тривалості лікування [5].

Фунгіцидна дія лактобактерій та їх продуктів метаболізму щодо грибів роду *Candida* відбувається внаслідок продукування молочної кислоти й антибіотикоподібних речовин [18].

Проте виявлено статистично вірогідні розбіжності між чутливістю грибів різних видів до фунгіцидної дії *Lactobacillus spp.* [19]. Так, штам *C. krusei* були чутливими тільки до 27,7 % штамів лактобацил, *C. albicans* гинули при рості у присутності 72,7 % штамів бактерій.

За даними деяких авторів, імовірність виникнення та тяжкість перебігу кандидозу багато в чому визначаються особливостями взаємодії лактобацил і *Candida spp.* Сьогодні не існує стандартних підходів у оцінці чутливості грибів до антагоністичної дії *Lactobacillus spp.* В експериментах із супернатантами, фільтратами чи екстрактами суцільних бактерій, що виділяють свої продукти в культуральне середовище, у переважній кількості випадків реєстрували фунгістатичний ефект або відзначали зменшення швидкості розмноження *Candida spp.* Найчастіше в дослідженнях використовували тільки *C. albicans*, а видову належність грибів не враховували [19]. У нашій роботі показано, що досліджувані нами селекційні штам *Lactobacillus rhamnosus* та *Lactobacillus murinus* мають фунгіцидний вплив на різні види грибів роду *Candida spp.*

Матеріали та методи дослідження

Для досліджень у роботі були використані ліофілізовані препарати на основі лактобактерій, які містили чисті культури молочнокислих бактерій без культуральної рідини. Це препарат «Лактопор», що містить *Lactobacillus murinus* (LE) в концентрації $5 \cdot 10^9$ кл/мл, препарат «Ацидолор» — *Lactobacillus rhamnosus* (LB3) концентрацією $5 \cdot 10^9$ кл/мл та препарат «Ацидолак», який містить суміш вищевказаних культур у рівній кількості, концентрація препарату $10 \cdot 10^9$ кл/мл.

Культури грибів роду *Candida* були виділені за стандартними методиками від хворих на хронічний тонзиліт і хронічний гайморитоміодит. Для дослідження були використані такі види: *C. albicans* — 25 штамів, *C. tropicalis* — 10 штамів і *C. krusei* — 5 штамів. Гриби культивувалися на живильному середовищі Сабуро (ГНЦ прикладної мікробіології, м. Оболонськ).

Для вивчення антагоністичного впливу лактобактерій на гриби роду *Candida* була застосована модифікована методика визначення бактерицидної та бактериостатичної дії, яка складалася з таких етапів:

1. Розливають по 2 мл рідкого живильного середовища Демана і співавторів (бульйон МРС) у стерильні пробірки, в першу наливають 4 мл.

2. Готують серію розведень препаратів «Лактопор», «Ацидолор» й «Ацидолак». Для цього в пробірку з 4 мл живильного середовища вносили 1 стандартну дозу, що містить ампула препарату, потім з цієї пробірки переносили 2 мл суспензії в наступну пробірку і т. д. Таким чином, кожне наступне розведення препаратів було вдвічі меншим за попереднє.

3. Окремо готують суспензії добових тест-культур грибів ро-



ду *Candida* щільністю 10^9 кл/мл (1 млрд) за стандартом калямутності ДІСК ім. Л. О. Тарасевича на фізіологічному розчині. В іншу пробірку наливають 9,9 мл фізіологічного розчину та вносять 0,1 мл суспензії 10^9 кл/мл; отримують суспензію щільністю 10^7 кл/мл.

4. Вносять у всі пробірки з розведеними препаратами по 0,1 мл суспензії тест-культур 10^7 кл/мл і залишають на 24 год у термостаті для сумісного культивування разом із контрольними зразками, що не містять препаратів.

5. Після інкубації з усіх без винятку пробірок висівають по 0,1 мл суспензії на густе живильне середовище Сабуро. Вміст умовно-патогенної флори визначається за підрахунком кількості колоній, що вирости. Концентрацію препаратів, за якої виростало не більше 10 колоній тест-культур, вважали мінімальною бактерицидною концентрацією (загибель 99,9 % клітин тест-культури).

Для вивчення фунгіцидної здатності продуктів метаболізму лактобактерій була використана методика визначення бактерицидної дії (наведена вище), але замість препарату для дослідження брали супернатанти культуральних рідин лактобактерій 24- та 48-годинного культивування. Супернатанти отримували внаслідок центрифугування при обертанні 3000 об/хв протягом 1 год та фільтрації крізь фільтри Зейца. Кількість культуральної рідини у першій пробірці дорівнювала 4 мл, а далі

дослідження проводилися за вищеописаною методикою.

Вплив продуктів метаболізму на чутливість грибів роду *Candida* до антимікотичних препаратів вивчали за методикою двошарового агару:

1. Лактобактерії концентрацією $1 \cdot 10^5$ кл/мл засівали у нижній шар агару МРС.

2. На верхній шар, утворений агаром Сабуро, засівали гриби роду *Candida* концентрацією $1 \cdot 10^7$ кл/мл.

3. На поверхні агару розміщували диски з антимікотиками за стандартною загальноприйнятою методикою.

4. Контролем слугували варіанти досліду, в яких нижній шар агару не містив лактобактерій.

Були використані диски з такими антимікотичними препаратами: ністатин (80 мкг на диск), ітраконазол (10 мкг на диск), флуконазол (40 мкг на диск), амфотерицин (40 мкг на диск) і клотримазол (10 мкг на диск), виробник НДЦФ, м. Санкт-Петербург.

Результати дослідження та їх обговорення

Антагоністичний вплив лактобактерій був поширений на всі види грибів роду *Candida*, що досліджувалися. Стійкими до впливу лактобактерій виявилися 3 штами *C. albicans* із 25, що досліджувались, 1 штама з 5 *C. krusei*; серед 10 штамів *C. tropicalis* не було виявлено нечутливих до лактобактерій.

Штами лактобактерій справляли фунгіцидну дію на гриби (таблиця). Незалежно від видової належності грибів роду

Candida, антагоністичний вплив лактобактерій був однаковим, тобто фунгіцидна активність лактобактерій до різних видів грибів роду *Candida* проявлялася за однакових їх концентрацій. Закономірно, що фунгіцидна активність лактобактерій підвищувалася залежно від їх концентрації.

Під час дослідження впливу продуктів метаболізму селекціонованих культур лактобацил на чутливість дріжджоподібних грибів роду *Candida* до антимікотиків виявили певні тенденції. Вивчали такі види грибів: *C. albicans*, *C. tropicalis* та *C. krusei*.

Використовували різні концентрації лактобацил, які вносили у нижній шар агару, та різний час культивування лактобактерій перед засіванням грибів на поверхню двошарового агару. При культивуванні грибів, засіяних на поверхні двошарового агару, що містили *Lactobacillus rhamnosus* (LB3) або *Lactobacillus murinus* (LE) у концентрації 10^9 кл/мл, гриби не виростили, росту не було і в тому випадку, коли лактобактерії інкубували протягом 24 год, а тільки потім засівали гриби (фунгіцидна дія). Зони затримки росту грибів під впливом продуктів метаболізму в досліді наведені на рис. 1 і 2.

За загальноприйнятими критеріями оцінки дискодифузійним методом чутливість грибів під впливом продуктів метаболізму *Lactobacillus rhamnosus* (LB3) зазнала змін. *C. albicans* набували чутливості до ітраконазолу і зберігали її до ністатину та клотримазолу і залишалися стійкими до амфотерицину та флуконазолу (див. рис. 1). Зона затримки росту до ітраконазолу зростала на 5–13 мм, до флуконазолу її діаметр дорівнював 5–11 мм; у *C. tropicalis* до всіх антимікотиків підвищилася чутливість; *C. krusei* не змінила чутливості до жодного антимікотика.

У випадку з *Lactobacillus murinus*, за загальноприйняти-

Таблиця

Фунгіцидний та фунгістатичний вплив лактобактерій *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus murinus* на гриби роду *Candida*

Показник	LE, $5 \cdot 10^9$ кл/мл	LB3, $5 \cdot 10^9$ кл/мл	LE+LB3, $1 \cdot 10^{10}$ кл/мл
Фунгіцидна концентрація розведення препарату	$5 \cdot 10^9$ суцільний	$1,25 \cdot 10^9$ 1:4	$0,05 \cdot 10^{10}$ 1:16
Фунгістатична концентрація розведення препарату	$2,5 \cdot 10^9$ 1:2	$0,625 \cdot 10^9$ 1:6	$0,025 \cdot 10^{10}$ 1:32



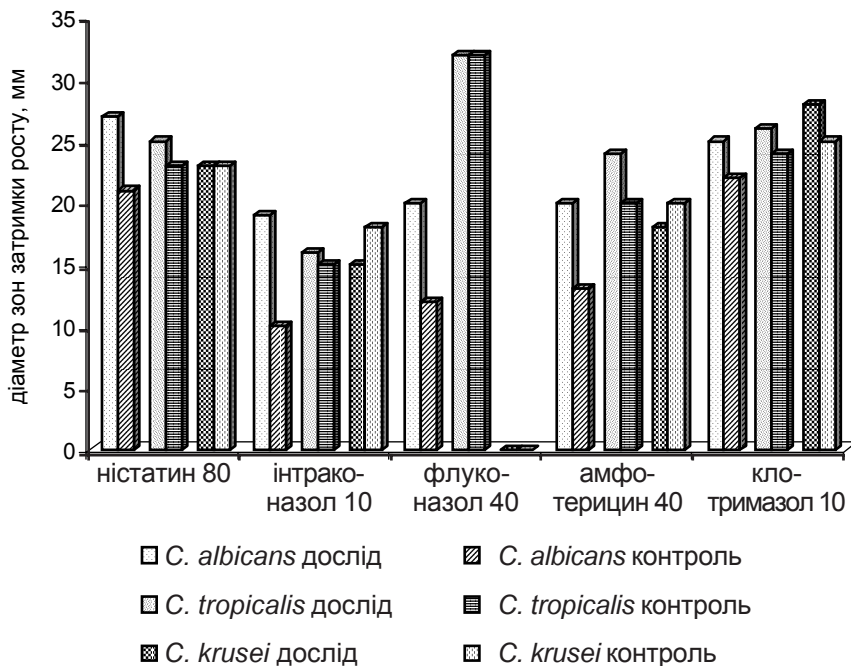


Рис. 1. Вплив продуктів метаболізму лактобактерій *Lactobacillus rhamnosus* (LB3) на чутливість грибів роду *Candida* до антимікотичних препаратів

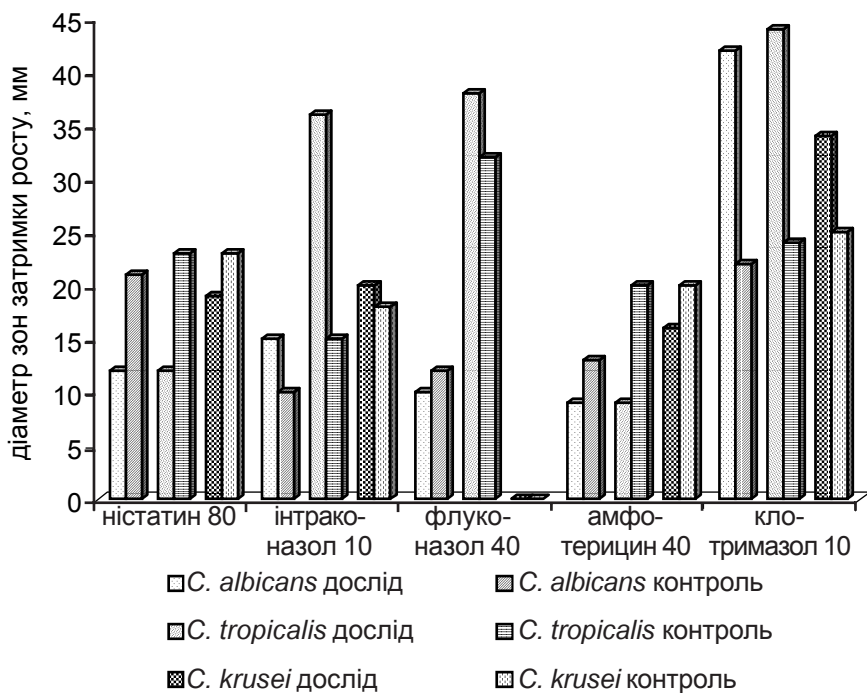


Рис. 2. Вплив продуктів метаболізму лактобактерій *Lactobacillus murinus* (LE) на чутливість грибів роду *Candida* до антимікотичних препаратів

ми критеріями оцінки, *C. albicans* набувала чутливості до клотримазолу та зберігала її до інтраконазолу. Гриби *C. tropicalis* набували чутливості до інтраконазолу, флуконазолу та клотримазолу зі збереженням чутливості до флуконазолу. Щодо *C. krusei*, підвищення

чутливості спостерігалось до клотримазолу, а чутливість до інтраконазолу залишалась на попередньому рівні (див. рис. 2). Для досліджень використовували як чутливі до антимікотичних препаратів кандиди, так і нечутливі. В експерименті *in vitro* грибів роду *Candida*,

стійких до ністатину та клотримазолу, практично не було.

Ці дані свідчать про синергізм антимікотичної дії селекціонованих штамів лактобацил з протигрибковими препаратами. Такий інтегральний вплив на грибову мікрофлору можна пояснити безпосереднім впливом продуктів метаболізму *Lactobacillus murinus* і *Lactobacillus rhamnosus*, а також моделюванням чутливості мікозної флори до протигрибкових препаратів. При збільшенні концентрації лактобактерій у нижньому шарі агару спостерігається фунгіцидна дія продуктів метаболізму селекціонованих штамів на гриби роду *Candida*.

Таким чином, рекомендується сумісне використання окремих протигрибкових засобів із пробіотичними препаратами на основі селекціонованих культур лактобацил, що є представниками нормальної мікрофлори для лікування мікозів ЛОР-органів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Элмер Г. В. Пробиотики: применение живых микробов для уменьшения использования антибиотиков // Клини. антибиотикотерапия. — 2002. — № 3 (17). — С. 31.
2. Корнюшенкова И. Н. Влияние лактобактерина на состав микробиоценозов верхних дыхательных путей у лиц с нарушениями микрофлоры // Авиакосм. и эколог. медицина. — 1998. — Т. 32, № 1. — С. 73-77.
3. Бабич Е. М., Елисеєва И. В., Белозерский В. И. Микробные ценозы носоглотки // Микробиол. журнал. — 1999. — Т. 61, № 3. — С. 63-69.
4. Кафарская Л. И., Коршунова О. В., Ефимов Б. А. Микробная экология влагаллица // Журн. микробиологии. — 2002. — № 6. — С. 91-99.
5. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю. В. Грибковые инфекции: Рук. для врачей. — М., 2003.
6. Хмельницкий О. К., Быков В. Л., Хмельницкая В. М. Патоморфологическая диагностика микозов, вызываемых условно-патогенными грибами: Пособие для врачей. — СПб., 2000.



7. Мюллер Э., Леффлер В. Микология. — М., 1995.

8. Онихомикозы у жителей Украины / А. В. Руденко, Э. З. Коваль, П. П. Рыжко, Е. А. Заплавская. — К., 2001.

9. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю. В. Кандидоз. — М., 2000.

10. Заболотный Д. И., Зарицкая И. С., Вольская О. Г. Диагностика и лечение грибковых синуситов // Ринология. — 2002. — № 4. — С. 3-10.

11. Красножен В. Н., Хайритоннова З. Х., Глушко Н. И. Роль плесневых и дрожжевых грибов в формировании хронических риносинуситов // Успехи мед. микологии. — 2003. — Т. II. — С. 245-246.

12. Бурова С. А., Макова Г. Н., Клешинин Д. А. Отомикозы // Там же. — С. 218.

13. Пальчен В. Т., Кунельская Н. Л., Артемьев М. Е. Микробный пейзаж острого гнойного синусита // Там же. — С. 252.

14. Кунельская В. Я., Шадрин Г. Б. Микоз среднего уха // Там же. — С. 254.

15. Заболотный Д. И., Зарицкая И. С., Вольская О. Г. Диагностика и лечение грибковых синуситов // Там же. — С. 286-288.

16. Чеснокова М. Г., Соловьева Т. Д., Карпова О. И. Анализ высеваемости грибов рода *Candida* из различ-

ного клинического материала // Современная микология в России: Материалы I Съезда микологов России.

17. Заболотный Д. И., Зарицкая И. С., Вольская О. Г. Особенности состава микобиоты при заболеваниях верхних дыхательных путей и уха // Там же.

18. Амбарумян А. Д., Тер-Степанян М. М. Профилактика носительства грибов рода *Candida* и стафилококков на коже рук медицинского персонала // Материалы 1-го съезда микологов России. — С. 235.

19. Ермоленко Е. И., Ждан-Пушкина С. Х., Гефен Г. Е. Чувствительность грибов рода *Candida* к действию лактобацилл // Успехи мед. микологии. — 2003. — Т. 1. — С. 13-14.

УДК 615:547.419.5:612-092.9

В. В. Годован, О. В. Жук, В. Г. Зіньковський, С. І. Щукін

АНАЛІЗ ФАРМАКОКІНЕТИКИ НОВИХ ПОХІДНИХ ДИФОСФОНАТОГЕРМАНАТІВ, ЗАСНОВАНИЙ НА ОЦІНЦІ СТАТИСТИЧНИХ МОМЕНТІВ ЇХ РОЗПОДІЛУ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН

Одеський державний медичний університет, Україна,
Опольський університет, Польща

Структура математичної моделі будь-якого процесу масопереносу ліків через мультикомпаратментальну макросистему визначається, перш за все, параметрами її одиничних макропроцесів (трансляції маси ліків між її підсистемами (компаратментами), системою і навколишнім середовищем) і мікропроцесів (хімічної трансформації, адсорбції та інших реакцій, що відбуваються всередині компартментів). У зв'язку з цим вона однозначно виявляється в характері розподілу часу перебування молекул лікарського засобу (ЛЗ) у даній системі та її компартментах [1–3]. Тому визначення параметрів розподілу часу перебування ЛЗ у досліджуваних компартментах біосистеми є істотним джерелом інформації про структуру та властивості досліджуваних і модельованих об'єктів і явищ (масопереносу ЛЗ через ці об'єкти).

Метою даної роботи є розробка нового фармакокінетичного методу, який дозволить виявити вплив усіх компартментів біосистеми на загальну кінетичну схему розподілу ЛЗ, та вивчення за його допомогою особливостей фармакокінетики нових біологічно активних речовин (БАР).

Розподіл часу перебування молекул ЛЗ у системі підпорядкований статистичним законам і визначається за виглядом «відгуку» — його концентраційної кривої в часі, «фармакокінетичної кривої» [2].

У зв'язку з цим, основними моментами у запропонованому методі фармакокінетичних досліджень були такі:

1. Визначення моментів розподілу за експериментальними даними

Для оцінки характеру розподілу часу перебування ЛЗ в досліджуваному компартменті складної системи достатнім є визначення величин:

$$\int_0^{\infty} C_{i,t} dt = AUC_{i,\infty}, \quad (1)$$

$$\int_0^{\infty} t \cdot C_{i,t} dt = \alpha_1 \cdot AUC_{i,\infty} = AUMC_{i,\infty}, \quad (2)$$

$$\int_0^{\infty} t^2 C_{i,t} dt = \alpha_2 \cdot AUC_{i,\infty} = AUM_2 C_{i,\infty}, \quad (3)$$

де $C_{i,t}$ — концентрація ЛЗ в «i-тому» компартменті;

