

НАЦИОНАЛЬНАЯ АССОЦИАЦИЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО И ЭНТЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ



ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО

Доклиническая и клиническая оценка эффективности продукта для функционального питания «Экстракт брожения кисломолочных бактерий, ферментированных в соевом молоке»
«ДАЙГО»

Москва, 2016

«УТВЕРЖДАЮ»
ПРЕЗИДЕНТ НАЦИОНАЛЬНОЙ АССОЦИАЦИИ
ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО И ЭНТЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

ПРОФЕССОР С.В.СВИРИДОВ

«23» июня 2016 г.



ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО

Доклиническая и клиническая оценка эффективности продукта для функционального питания «Экстракт брожения кисломолочных бактерий, ферментированных в соевом молоке»
«ДАЙГО»

Москва, 2016

Материал подготовлен по итогам научно-исследовательской работы «Доклиническая и клиническая оценка эффективности продукта для функционального питания «Экстракт брожения кисломолочных бактерий, ферментированных в соевом молоке «Дайго»», выполненной ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы».

Составители:

Профессор Т.С.Попова, д.м.н. С.В.Журавель, к.м.н. Т.В.Черненькая, д.б.н.
Н.С.Тропская, к.м.н. Н.К.Кузнецова, к.б.н. Е.А.Кислякова, И.Г.Шашкова.

Содержание

1.	Введение	Стр. 5.
2.	Основные функции нормальной микрофлоры	Стр. 6.
3.	Дизбактериоз кишечника, как клинико- лабораторный синдром	Стр. 7.
4.	Ассоциированная с антибиотиками диарея (ААД)	Стр. 8.
5.	Патогенез АДД	Стр. 10.
6.	Терапия дисбактериоза	Стр. 11.
7.	Лечение АДД	Стр. 14.
8.	Что такое Дайго?	Стр. 15.
9.	Функции и состав экстракта кисломолочных бактерий	Стр. 17.
10.	Оценка доклинической и клинической эффективности Дайго	Стр. 19.
11.	Дизайн экспериментальных исследований	Стр. 20.
12.	Сбор проб для бактериологического исследования	Стр. 22.
13.	Методы исследования	Стр. 22.
14.	Оценка эффективности влияния Дайго на показатели эвакуаторной функции тонкой кишки	Стр. 23.
15.	Оценка влияния Дайго на состав микрофлоры различных отделов кишечника в эксперименте	Стр. 24.
16.	Дизайн клинического исследования	Стр. 33.
17.	Оценка влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у здоровых добровольцев	Стр. 35.
18.	Оценка влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у пациентов с циррозом печени, находящихся в листе ожидания трансплантации печени	Стр. 36.
19.	Оценка влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у пациентов после операции трансплантации печени	Стр. 38.
20.	Заключение	Стр. 40.
21.	Литература	Стр. 43.

1. Введение

Почти 120 лет назад наш соотечественник академик И.И. Мечников определил, что многочисленное разнообразие ассоциаций микроорганизмов, населяющих пищеварительный тракт человека, в значительной степени определяют не только физическое, но и духовное здоровье человека. Уже в 1907 году И.И. Мечников выдвинул новую «теорию долголетия», в основе которой значительная роль отводилась нормализации микрофлоры организма человека.

Фактически была предложена новая теория оздоровления, продления и улучшения качества жизни через употребление молочнокислых продуктов. Длительное наблюдение за лицами, регулярно употреблявшими кисломолочные продукты, дало возможность учёному сделать следующий вывод: «наша преждевременная и несчастливая старость является следствием постоянного отравления вредными веществами, выделяемыми некоторыми микробами толстого кишечника. Совершенно очевидно, что уменьшение количества этих микробов отдаляет старость и смягчает её проявления».

В своей книге «Этюды оптимизма» И.И. Мечников обосновал профилактическое и лечебное применение молочнокислых бактерий для благоприятного воздействия на здоровье человека.

В последнее время многие представления о микрофлоре человека и животных, ее составе и роли в поддержании здоровья и возникновении заболеваний существенно изменились и обогатились.

Всеми признается, что нормальная микрофлора человека играет огромную роль в повышении качества жизни и восстановлении здоровья. Сформированное микробное сообщество, «нормальная микрофлора», обозначенное в настоящее время в отечественное и зарубежной литературе термином «микробиота», принято в настоящее время рассматривать как качественное и количественное соотношение в отдельных органах и системах разнообразных популяций микробов, поддерживающих биохимическое, метаболическое и иммунное равновесие макроорганизма, необходимое для сохранения здоровья человека.

Сформированное микробное сообщество, как правило, сохраняется в течение всей жизни человека, однако, следует помнить, что огромное количество внешних факторов, вредно влияющих на организм человека отрицательно действует и на состояние микрофлоры. Это заставляет исследователей-экспериментаторов и клиницистов уделять большое внимание изучению изменений в составе микрофлоры, закономерностям, по которым развивается дисбиоз или дисбактериоз при различных заболеваниях, а также разработкам по совершенствованию способов коррекции нарушенной

микрофлоры и стабилизации нормобиопеноза с целью восстановления здоровья человека и улучшения качества жизни.

2. Основные функции нормальной микрофлоры

1. Колонизационная резистентность организма препятствует росту и адгезии патогенной и условно патогенной микрофлоры. Представители нормальной микрофлоры способны продуцировать факторы защиты: органические кислоты, перекись водорода, бактериоцины, лизоцим и другие антибиотикоподобные вещества.

2. Пищеварение. Сложные полисахариды, которые не перевариваются в тонком кишечнике (ксиланы, пектин, микрополисахариды, гликопротеин), расщепляются преимущественно микрофлорой толстого кишечника. Микрофлора участвует в расщеплении непереваренных азотосодержащих соединений, синтезирует некоторые незаменимые аминокислоты.

3. Синтетическая функция. Именно микрофлора кишечника продуцирует витамин К, витамин В12, фолиевую кислоту (В9), биотин (В8), рибофлавин (В2) и пантотеновую кислоту (В5). При отсутствии дисбактериоза этот синтез может с избытком покрывать суточные потребности организма человека (как, например, в случае с витамином В12 и К).

4. Трофическая — питание и обновление кишечного эпителия.

5. Детоксикационная — защита организма от токсического воздействия экзогенных и эндогенных субстратов или метаболитов.

Так, например, одной из функций нормофлоры является метаболизм азота и углеродсодержащих соединений за счет микробных ферментов.

Метаболизм мочевины происходит на 50% за счет бактериальных уреаз.

Известна способность молочнокислых бактерий продуцировать гистаминазу, инактивирующую гистамин, играющий важную роль в проявлении аллергии. Бактерии кишечника принимают участие в рециркуляции желчных кислот и активно влияют на метаболизм билирубина и холестерина.

6. Канцерогенез. Нарушения микрофлоры кишечника — фактор риска рака толстой кишки. В 1969 г. Уолкер с соавторами выдвинули предположение, что существует связь развития рака толстой кишки с замедленным транзитом каловых масс в сочетании с дисбактериозом кишечника. Изменение микрофлоры ведет к нарушению синтеза короткоцепочечных жирных кислот.

7. Иммуномодулирующий эффект. Под воздействием нормофлоры кишечника усиливается фагоцитарная активность макрофагов, моноцитов и гранулоцитов. Стимулируется пролиферация плазматических клеток,

увеличивается синтез IgA цитокинов и клеточных иммунных механизмов защиты.

Биологическое равновесие нормофлоры легко нарушается самыми различными факторами эндогенной природы: заболевания органов пищеварения, кишечные инфекции, несбалансированное питание, стрессовые ситуации, оперативные вмешательства, гормональная и лучевая терапия, иммунодефицитное состояние, антибиотикотерапия и другие. Все вышеперечисленные факторы могут приводить к нарушению не только количественного, но и качественного состава микрофлоры.

3. Дизбактериоз кишечника, как клиничко-лабораторный синдром

Под дисбактериозом кишечника понимают клиничко-лабораторный синдром, связанный с изменением качественного и/или количественного состава микрофлоры кишечника с последующим развитием метаболических и иммунологических нарушений, сопровождающихся развитием желудочно-кишечных функциональных расстройств.

Дисбактериоз является синдромом, приводящем к изменению внутренней среды кишечника, нарушению процессов пищеварения с повреждающим воздействием на кишечную стенку, а вместе со структурными изменениями развиваются и функциональные, проявляющиеся синдромом нарушенного всасывания (мальабсорбцией) и нарушением моторно-эвакуаторной функции в виде запоров или поносов. Дисбактериоз кишечника различной степени выраженности выявляется у 90% населения России. Он возникает от разнообразных причин: характера питания, возраста, состояния окружающей среды, при пищевой аллергии и аллергических заболеваниях, у больных, длительно получающих антибактериальную терапию, от воздействия лучевой и цитостатической терапии, при гастроэнтерологической и других патологиях.

По результатам многолетних исследований Е.И.Ткаченко и Ю.П.Успенский (2006) сформулировали основные микробиологические критерии диагностики кишечного дисбиоза:

- Изменение соотношения между аэробной и анаэробной микрофлорой;
- Снижение содержания бифидобактерий, лактобактерий и бактероидов;
- Изменение соотношения микроорганизмов групп облигатных и факультативных представителей нормальной микрофлоры;
- Увеличение общего количества кишечной палочки с измененными биологическими свойствами;

- Появление гемолизующих эшерихий и стафилококков, отсутствующих в норме;
- Экспансия микрофлоры за границы привычной зоны обитания, выражающаяся в синдроме избыточной колонизации тонкой кишки. В настоящее время разработана классификация дисбиоза на основании клинико-морфологических исследований (В.М.Бондаренко, 1994);
- 1-я степень (латентная, компенсированная форма) характеризуется незначительными изменениями в аэробной части микробиоценоза (увеличение или уменьшение количества эшерихий). Бифидо- и лактофлора не изменены. Как правило, кишечная дисфункция не наблюдается.
- 2-я степень (субкомпенсированная форма) - на фоне незначительного снижения содержания бифидобактерий выявляются количественные и качественные изменения эшерихий и увеличение популяционного уровня группы условно-патогенных бактерий, псевдомонад и грибов рода *Candida*. Отмечается преходящая дисфункция кишечника.
- 3-я степень - значительно сниженный уровень бифидофлоры в сочетании со снижением содержания лактофлоры и резким изменением количества эшерихий. Вслед за снижением уровня бифидофлоры нарушается состав микрофлоры кишечника, создаются условия для проявления агрессивных свойств условно-патогенных микроорганизмов. При дисбиозе 3-й степени возникает дисфункция кишечника.
- 4-я степень - отсутствие бифидофлоры, значительное уменьшение количества лактофлоры и изменение содержания кишечной палочки (снижение или увеличение), возрастание числа облигатных, факультативных и не характерных для здорового человека видов условно-патогенных микроорганизмов в ассоциациях. Нарушается нормальное соотношение состава кишечного микробиоценоза, в результате чего снижается его защитная функция, изменяются ферментативные процессы, возрастает уровень нежелательных продуктов метаболизма условно-патогенных микроорганизмов.

4. Ассоциированная с антибиотиками диарея (ААД)

Широкое внедрение в клиническую практику антибиотиков позволило успешно решать проблемы профилактики и лечения многих инфекционных заболеваний. Однако нередко неоправданное их применение в повседневной клинической практике сопряжено с необходимостью лечения побочных осложнений. Одним из нежелательных последствий применения антибиотиков является нарушение состава и активности нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, сопровождающееся снижением ее

колониционной резистентности и чрезмерным ростом условно-патогенной, а иногда и патогенной микрофлоры, что проявляется развитием ассоциированной с антибиотиками диареи (ААД).

Ассоциированная с антибиотиками диарея (ААД) — клинический синдромокомплекс, в основе которого лежит нарушенный вследствие приема антибиотиков баланс между облигатной и факультативной условно патогенной кишечной микрофлорой, что проявляется, прежде всего, желудочно-кишечной диспепсией различной степени выраженности. Согласно современным представлениям, **диагноз ААД может быть поставлен, если на фоне или в течение восьми недель после окончания антибиотической терапии возникает не менее трех эпизодов неоформленного стула в течение двух последовательных дней или более.**

Частота развития ААД может существенно варьировать в зависимости от класса используемого антибиотика, его дозировки и сроков применения. К антибиотикам, наиболее часто вызывающим ААД, относятся, прежде всего, линкозамиды (линкомицин, клиндамицин), полусинтетические пенициллины, и цефалоспорины 3-его поколения.

Актуальность ААД для клинической практики обусловлена несколькими обстоятельствами.

Во первых, диарея нередко сопровождается водно-электролитными нарушениями и гипопроотеинемией различной степени выраженности, что может приводить к гиповолемии, гипоперфузии и дизэлектролитемии.

Во-вторых, при ААД, особенно при развитии псевдомембранозного колита, имеется нарушение барьерной функции кишечника, что приводит к активной чрезпортальной и чрезлимфатической транслокации условно-патогенных микробов и их токсинов из кишечника в кровь. Возникающая транзиторная бактериемия вызывает активацию макрофагов и чрезмерную продукцию провоспалительных цитокинов, индуцирующих системную воспалительную реакцию организма.

В-третьих, псевдомембранозный колит может сопровождаться развитием таких тяжелых и опасных для жизни осложнений, как синдром интраабдоминальной гипертензии, развивающийся при кишечном парезе «кишечный» сепсис, токсическая дилатация толстой кишки и ее перфорация. В-четвертых, следует учитывать, что ААД является нозокомиальной инфекцией, при которой имеется высокий риск инфицирования медицинского персонала условно патогенной кишечной микрофлорой больных и передача ее другим пациентам, что повышает риск развития у них кишечной дисфункции.

Таким образом, ААД не только удлиняет сроки пребывания госпитализированных больных в стационаре и увеличивает материальные затраты

на их лечение, но в ряде случаев может явиться причиной неблагоприятного исхода любого заболевания.

5. Патогенез АДД

Универсальным звеном патогенеза АДД служит негативное воздействие антибактериальных средств на кишечную микрофлору, что приводит к дисбалансу кишечного микробиоценоза. Антибактериальные препараты могут влиять на кишечную микрофлору в результате неполной абсорбции из желудочно-кишечного тракта после перорального приема или в случае их экскреции со слюной, желчью или кишечной слизью. Антибиотики в различной степени инактивируются в ЖКТ путем разрушения или связывания. Однако остаточная активность большинства антибактериальных препаратов сохраняется достаточно высокой и способна вызвать нарушения микроэкологического баланса в просвете кишечника.

Таким образом, антибактериальные препараты независимо от способа их введения оказывают прямое воздействие как на условно-патогенные микроорганизмы, так и на облигатную нормофлору, обеспечивающую колонизационную резистентность слизистой оболочки ЖКТ. Это создает условия для колонизации слизистой оболочки кишечника как экзогенными условно-патогенными микроорганизмами, так и для избыточного роста факультативных условно-патогенных микробов.

Понятие «колонизационная резистентность» впервые было введено Van der Waaij (1971) для обозначения невосприимчивости организма хозяина к колонизации экзогенной условно-патогенной микрофлорой. В ходе дальнейших исследований получил подтверждение тот факт, что один и тот же состав микроорганизмов обеспечивает резистентности макроорганизма в отношении как экзогенных, так и факультативных аэробных условно-патогенных бактерий. Позднее было показано, что основной вклад в формирование колонизационной резистентности вносит облигатная анаэробная флора.

Основными механизмами развития АДД являются:

1. Подавление роста облигатных анаэробов и нарушение целостности микробно-тканевого комплекса («биологической пленки»), покрывающего слизистую оболочку кишечника, что приводит к снижению ее колонизационной резистентности и нарушению местного иммунитета. Подавление нормальной бактериальной флоры кишечника сопровождается снижением синтеза короткоцепочечных жирных кислот (в частности бутирата), что приводит к нарушениям трофического обе-

спечения энтероцитов. а также адсорбции воды и электролитов.

2. Снижение антагонистической активности облигатной микрофлоры сопровождается восходящей контаминацией условно-патогенной микрофлоры тонкой кишки, прогрессирующим ее размножением и повышенным образованием токсических продуктов их жизнедеятельности, что оказывает прямое повреждающее воздействие на слизистую оболочку всего кишечника с развитием воспалительной реакции и повышенной интракишечной секрецией воды и электролитов.
3. Разрушение и инактивация пищеварительных ферментов условно-патогенной микрофлорой приводит к нарушению процессов внутриполостного, а также пристеночного (мембранного) пищеварения и, прежде всего, недостаточному перевариванию и всасыванию углеводов вследствие возникающей дисахаридазной недостаточности, что проявляется бродильной диспепсией.
4. Чрезмерное накопление в просвете кишки промежуточных продуктов гидролиза пищевых веществ сопровождается повышением внутриполостного осмотического давления, способствуя повышенной секреции воды и электролитов в просвет кишечника.
5. Нарушение деконъюгации желчных кислот, вследствие чего повышенное количество свободных желчных кислот поступает в просвет толстой кишки и вызывает химическое повреждение ее слизистой оболочки, стимулируя интракишечную секрецию воды и хлоридов.
6. Нарушение регенерации, а также структурной целостности эпителиоцитов и барьерной функции слизистой оболочки кишечника, что сопровождается активной транслокацией микробов и их токсинов из кишечника в кровь.
7. Расстройство моторно-эвакуаторной деятельности кишечника, проявляющееся чаще всего гипермоторной дискинезией вследствие прямого воздействия на интрамуральные ганглии кишечной стенки вследствие повышенного объема кишечного содержимого. Реже может наблюдаться гипомоторная дискинезия толстой кишки, вплоть до развития кишечного пареза, обусловленная прямым токсическим воздействием кишечного содержимого.

6. Терапия дисбактериоза

До недавнего времени наука о питании рассматривала пищу главным образом в качестве источника энергии и пищевых веществ, необходимых для удовлетворения потребностей в них человека. По мере расшифровки химического состава отдельных микронутриентов и биологически

активных веществ, выявления корреляционной зависимости между их содержанием и состоянием здоровья был сформулирован новый взгляд на пищу как на средство профилактики и лечения некоторых заболеваний. Кроме того, последние успехи биохимии, клеточной биологии, физиологии и патологии подтвердили гипотезу о том, что пища также контролирует и модулирует различные функции организма и как следствие - участвует в поддержании здоровья и снижении риска возникновения ряда заболеваний. На основании изложенного была сформулирована в первом приближении концепция функционального питания и стала разрабатываться новая научная дисциплина — *функциональная нутрициология*.

Концепция функционального питания, впервые сформулированная в Японии в конце 1990-х годов, получила широкое признание в проблеме коррекции состояния микроэкологической системы человека, являясь в наиболее развитых странах мира одним из приоритетных направлений в профилактике и лечении большинства хронических заболеваний.

Функциональное питание объединяет продукты естественного или искусственного происхождения, которые предназначены для систематического ежедневного употребления и оказывают регулирующее действие на физиологические функции, биохимические реакции и психосоциальное поведение человека через нормализацию его микроэкологического статуса (Шендеров Б.А., 2001).

В последнее время очень часто проблема функционального питания обсуждается в контексте развития проблемы использования про- и пребиотиков. Это связано прежде всего с тем, что концепция функционального питания становится более направленной на специальные продукты, которые могут положительно влиять на состав кишечной микрофлоры. Эта концепция на ранних этапах концентрировалась на пробиотиках, а позднее на пребиотиках.

Разработку концепции «функциональное питание» и её воплощение в жизнь Б.А. Шендеров (2001; 2005) относит по значимости для охраны здоровья человечества к выдающимся достижениям конца XX века, равным использованию атомной энергии, созданию компьютеров, генной инженерии.

Согласно оригинальному определению R.V. Parker (1974), пробиотики являются «организмами и веществами, которые поддерживают кишечный микробиологический баланс». S.Crawford (1979) определил *пробиотики* как «культуру специфической жизни микроорганизмов (главным образом лактобацилл), которые имплантируются в организм и обеспечивают эффективное усвоение кишечных популяций полезных и патогенных организмов».

R. Fuller (1989) дал другое определение пробиотикам: «Живые микробные пищевые добавки, которые благоприятно воздействуют на большинство микроорганизмов путем улучшения их баланса».

Более простое определение — «*пробиотики* являются бактериями, которые культивируются в лабораторных условиях и затем используются для восстановления баланса микрофлоры, которая изменяется под действием стресса, заболевания или при использовании антибиотиков». Благодаря восстановлению баланса микрофлоры здоровье организма может не только поддерживаться, но и значительно улучшаться.

Согласно данным R. Fuller (1989), кишечная среда является постоянной средой обитания бактерий, которые растут и образуют колонии в кишечнике для продукции микрофлоры, характерной для хозяина. Наиболее крупные микробные колонии располагаются в дистальном отделе (слепая и ободочная кишка).

По влиянию на организм хозяина бактерии могут быть подразделены на полезные и вредные. В здоровом организме преобладают полезные бактерии. Если в результате каких-либо воздействий взаимосвязь между бактериями нарушается, и вредные бактерии становятся преобладающими, увеличивается количество продуктов разложения, токсинов и канцерогенов, которые перегружают печень и другие ткани, участвующие в детоксикации, снижая иммунный статус организма и вызывая различные заболевания. Количество патогенных бактерий, очень малое в норме, также увеличивается, существенно снижая резистентность организма.

Понятие «*пребиотики*», впервые сформулированное R. Gibson (1995), используется для обозначения веществ или диетических добавок, в большинстве своем неабсорбируемых в кишечнике человека, но благотворно влияющих на организм путем селективной стимуляции роста и/или активизации метаболизма полезных представителей его кишечной микрофлоры. Таким образом, пребиотики можно назвать стимуляторами пробиотиков.

Пребиотики — непереваренные пищевые ингредиенты, которые благоприятно действуют на организм хозяина путем селективной стимуляции роста и/или стимуляции активности одного или ограниченного большинства бактерий в толстом кишечнике. Таким образом, пребиотический подход отстаивает введение жизнеспособных микроорганизмов и стремится к преодолению проблем их выживания в ЖКТ.

Таким образом, интерес к про- и пребиотикам растет, в частности, в связи со стремлением увеличить соотношение полезной и патогенной кишечной микрофлоры с тем, чтобы снизить риск развития бактерий, обуславливающих заболевания толстой кишки. Идеальным является поддержание специфической полезной микрофлоры в пищеварительном тракте в

течение всей жизни, что может обеспечить нормальный микробный баланс. В то же время необходимо добавление к диете микроорганизмов или субстратов, которые этому способствуют.

7. Лечение АДД

Одним из важных составляющих лечения АДД является контроль кишечного микробиоценоза, направленный, с одной стороны, на поддержку и восстановление облигатной кишечной микрофлоры, а с другой, - на подавление роста условно-патогенных микроорганизмов. С этой целью, также, как и при лечении дисбиоза, широко применяются различные пре- и пробиотики.

Известно, что нормальная кишечная микрофлора оказывает прямой микробный антагонизм в отношении условно патогенной и транзитной патогенной микрофлоры, поддерживает местный и общий иммунитет, обеспечивает оптимальную регенерацию слизистой оболочки кишечника и ее всасывательную способность, расщепляет клетчатку, образует дополнительный (вторичный) поток нутриентов (витамины, аминокислоты), дезактивирует свободные кишечные ферменты и желчные кислоты, а также нейтрализует ксенобиотики. Снижение популяционного уровня облигатной микрофлоры, обладающей высокой антагонистической активностью, создает условия для чрезмерного развития условно патогенной микрофлоры. Назначение пре- и пробиотиков в лечении АДД рассматривается, как элемент целенаправленной профилактики нарушений кишечного микробиоценоза, а также как вариант «неантибиотической» деконтаминации условно патогенной и патогенной кишечной микрофлоры.

Накопленные сегодня научные и клинические данные в области профилактики АДД подтверждают эффективность раннего использования для этой цели про- и пребиотиков.

Установлено, что некоторые пробиотики оказывают прямое антибактериальное и антитоксическое действие в отношении многих микроорганизмов. Данные 22 метаанализов подтвердили, что пробиотики эффективны для предупреждения АДД. Так, например, *Saccharomyces boulardii* подавляют рост *Cl. difficile*, *Candida albicans*.

При использовании пробиотиков в профилактике и лечении АДД в настоящее время сформулированы повышенные требования к их функциональной активности, они:

1. должны выживать при прохождении через желудочный тракт, что предполагает их резистентность к кислоте и желчи;

2. адгезироваться на эпителиальных клетках кишечника с последующей колонизацией;
3. стабилизировать кишечную микрофлору;
4. не иметь признаков патогенности;
5. сохранять жизнеспособность как в пищевых продуктах, так и в процессе получения фармакопейных лиофилизированных препаратов;
6. быстро размножаться, колонизируя кишечный тракт, и
7. персистировать с проявлением родовых свойств пробиотиков.

Опубликованы результаты исследований, в которых продемонстрировано снижение риска инфицирования области хирургического вмешательства, несостоятельности анастомозов, легочных и урологических осложнений при назначении пробиотиков. В то же время, несмотря на значительное количество фундаментальных и клинических исследований указывающих на благотворное влияние пробиотиков, многие рецензируемые исследования считаются слабыми или с недостаточной научной базой.

В настоящее время существует разрыв между маркетингом пробиотиков с претензией на достоверно значимый клинический эффект и результатами научных исследований. По мнению Американской гастроэнтерологической ассоциации (AGA), в настоящее время ещё не имеется достаточного количества научных данных в отношении того, какой конкретно пробиотик целесообразно использовать для улучшения определённых состояний или при лечении конкретных болезней.

Согласно позиции AGA, в настоящее время некоторые пробиотики наиболее часто используют при лечении ААД, по их данным, *Saccharomyces boulardii* могут предотвратить рецидивы наиболее опасных и наиболее часто встречающихся антибиотико-ассоциированных диарей, вызываемых *Clostridium difficile*.

Таким образом, ассоциированная с антибиотиками диарея, представляет собой определенную клиническую проблему, решение которой требует дальнейших научных и клинических исследований.

8. Что такое Дайго?



С апреля 2015 года на Российском рынке функциональных продуктов зарегистрирован и разрешен к применению для поддержания микробиоценоза кишечника, усиления иммунитета, а также решения гастроэнтерологических проблем японский продукт Дайго, содержащий специально подобранный в качестве активного ингре-

диента экстракт брожения 16 штаммов лактобактерий. Дайго был разработан в качестве нового креативного типа функциональных продуктов, производимых из кисломолочных бактерий, способствующих улучшению функционального состояния желудочно-кишечного тракта. В отличие от пробиотиков, Дайго не содержит живых кисломолочных бактерий. Дайго является напитком, содержащим экстракт брожения кисломолочных бактерий в качестве активного ингредиента. Экстракт кисломолочных бактерий производится путем совместного культивирования 16 природных штаммов кисломолочных бактерий, ферментированного с экстрактом соевого молока. Для получения соевого молока, используемого в качестве среды для культивирования кисломолочных бактерий, применяются специальные соевые бобы, выращенные органическим путем без пестицидов и химикатов. Экстракт кисломолочных бактерий является смесью секреторных продуктов и клеточных веществ кисломолочных бактерий, полученных при их брожении. Исследования последних лет показали, что клеточные вещества и продукты брожения метаболизированных кисломолочных бактерий оказывают лучший эффект на кишечную регуляцию и жизненные функции, чем жизнеспособные кисломолочные бактерии.

Дайго представляет собой смесь пептидов-биорегуляторов, экстрагированных из бактериальных клеток 16 штаммов лактобактерий, колонизирующих кишечник здорового человека. Для культивирования лактобактерий в качестве питательной среды используется соевое молоко, повышающее плотность культивации лактобактерий в 1000 раз по сравнению с культивацией в коровьем молоке. Главными компонентами активного влияния на ЖКТ являются секрет брожения лактобактерий и клеточные стенки лактобактерий. (Рис. 1).

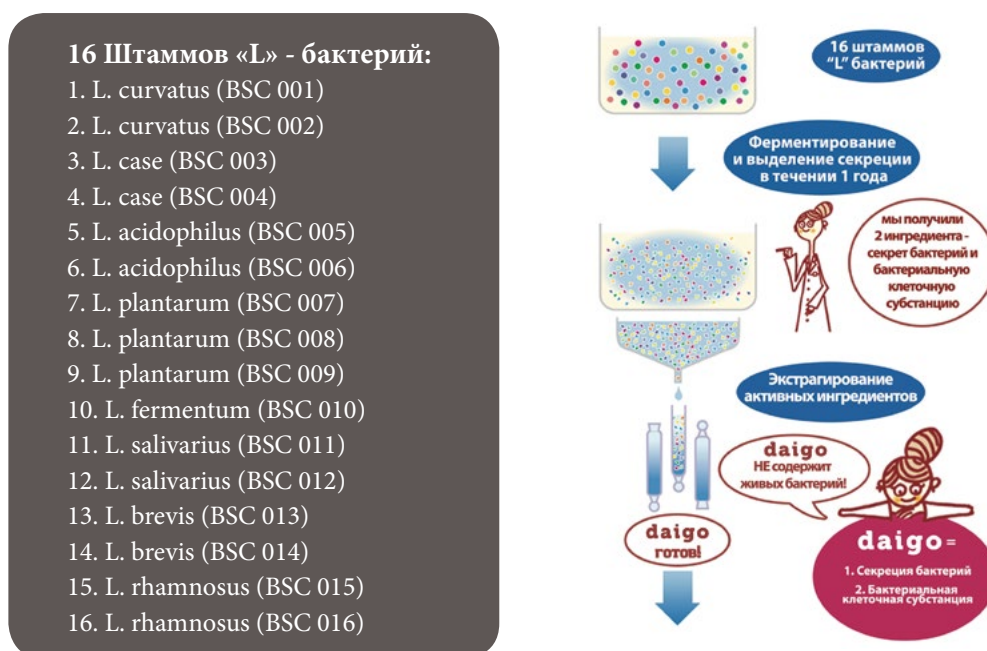


Рис. 1. Состав ферментируемых лактобактерий и схема производства «Дайго».

Секрет лактобактерий. Выделения лактобактерий активизируют действие родных, генетически детерминированных лактобактерий кишечника хозяина и способствуют их размножению. Кроме того, ограничивают размножение вредных бактерий и снижают их количество. Таким образом, патогенные бактерии замещаются полезными бактериями, и кишечная среда плавно улучшается.

Тела лактобактерий. Тела лактобактерий — клеточная субстанция, содержащая пептидогликаны и нуклеиновую кислоту, активизируют иммунные клетки благодаря стимуляции Пейеровых бляшек кишечника, способствуют стимуляции иммунной системы.

9. Функции и состав экстракта кисломолочных бактерий

Экстракт кисломолочных бактерий, в отличие от пробиотиков, не содержит так называемые «живые» кисломолочные бактерии. Дело в том, что он сильно отличается от обычной продукции, имеющей отношение к кисломолочным бактериям. Компоненты, входящие в состав этого экстракта, в основном делятся на секреторные компоненты кисломолочных бактерий (метаболические компоненты) и собственные разлагающие компоненты кисломолочных бактерий (бактериальные компоненты).

Анализ низкомолекулярных компонентов экстракта кислотных бактерий, полученных в результате ферментирования 16 штаммов молочнокислых бактерий и соевого молока в течении года, свидетельствует о том, что в качестве эффективных компонентов в нем присутствует широкий спектр веществ: низкомолекулярные пептиды, низкомолекулярная нуклеиновая кислота, компоненты, растворяющие стенки клеток, растворители фосфолипидов, различные производные аминокислот, хиноны, флавоноиды, содержащие изофлавоны. Предполагается, что каждое из них может быть компонентом, связанным с иммунным ответом, компонентом, участвующим в связи между бактериями и клетками, компонентом, связанным с реакцией кишечной ткани, они проявляют свои функции, действуя согласованно.

Выполненные в 887 клиниках Японии исследования эффективности включения «Дайго» в состав комплекса лечебных мероприятий показали, что регуляторные пептиды, входящие в состав Дайго помогают при:

- дисбактериозе различного происхождения;
- профилактике и борьбе с Хеликобактер пилори;
- хронических заболеваниях ЖКТ (хронический колит, хронический гастрит, язва желудка и двенадцатиперстной кишки, синдром раздраженного кишечника, болезнь Крона);

- полипах толстой кишки;
- запоре;
- ААД (антибиотико-ассоциированной диарее);
- нарушении функции печени;
- сахарном диабете;
- аллергических заболеваниях;
- антибактериальной, длительной гормональной и лучевой терапии;
- профилактике осложнений и улучшении работы кишечника женщин в период беременности;
- нарушении микрофлоры половых органов женщины (кандидозный вагинит, воспаления шейки матки);
- стоматитах и кариесе;
- кожных заболеваниях (сухость, диатезы, атопический дерматит).

Обобщение японскими учеными и клиницистами полученных в эксперименте и клинике данных показало, что метаболизированные молочнокислые бактерии и продукты их брожения оказывают лучший эффект на кишечную регуляцию и функциональное состояние ЖКТ, чем жизнеспособные «живые» молочнокислые бактерии – пробиотики.

В целом, многочисленные экспериментальные и клинические исследования показали, что Дайго сильно отличается по эффективности положительного действия от пробиотиков, т.к. прежде всего Дайго способствует увеличению собственных лактобактерий, живущих в кишечнике, естественной среде их обитания. Ведущие зарубежные и отечественные ученые в настоящее время получили данные о том, что живые бактерии не приживаются в кишечнике. Дайго – смесь пептидов-биорегуляторов возрождает родную среду хозяина, так называемую «генетически детерминированную флору, которая окончательно формируется у каждого человека с молоком матери. Именно эта флора является основой восстановления жизнеспособности организма человека.

В настоящее время многочисленные усилия японских специалистов, направленные на изучение механизмов действия экстрактов брожения кислотомолочных бактерий «Дайго», дополняются научными экспериментами и клиническими исследованиями российских специалистов, способствующих расширению внедрения методов возрождения полезной кишечной микрофлоры. Складывается впечатление, что смесь пептидов-регуляторов, образующихся при экстракции продуктов брожения лактобактерий в результате ферментации совместно с соевым молоком позволяет открыть новые горизонты лечения больных гастроэнтерологического, хирургического, уро-

логического профиля и других, среди которых малоизученными остаются проблемы антибиотикозависимой диареи и нарушений желудочно-кишечного тракта при трансплантации печени. Особое значение имеет изучение перспективы использования Дайго в лечении ААД. Для изучения этих вопросов в НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского были проведены доклинические и клинические исследования.

10. Оценка доклинической и клинической эффективности Дайго

Задачи доклинического исследования:

1. Оценить эффективность специализированного продукта Дайго в коррекции эвакуаторных нарушений тонкой кишки при экспериментальном дисбиозе у крыс;
2. Оценить эффективность специализированного продукта Дайго в коррекции полостной и пристеночной микрофлоры тонкой и толстой кишок при экспериментальном дисбиозе у крыс.

Задачи клинического исследования:

1. На основании физикального осмотра и анкетирования оценить влияние специализированного продукта Дайго на изменение общего состояния здоровья добровольцев и пациентов до- и после трансплантации печени;
2. Оценить влияние специализированного продукта Дайго на количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у здоровых добровольцев и пациентов, находящихся в листе ожидания трансплантации печени;
3. Оценить эффективность специализированного продукта Дайго в коррекции состава микрофлоры толстой кишки после профилактической антибиотикотерапии у пациентов, перенесших трансплантацию печени.

Регулирующие стандарты

Исследования производились согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 267 от 19.06.2003). Эксперименты на животных проводились в соответствии с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях (2010).

11. Дизайн экспериментальных исследований

Эксперименты были проведены на 35 взрослых крысах самцах (масса тела около 300 г, возраст 4 мес.) линии Вистар. Крысы были получены из питомника ООО «НеоМаркет». Все экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, получали воду и сбалансированный рацион питания (гранулированный корм, изготовленный по заказу ООО «Лабораторкорм», 115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24, Строение 9) без ограничения. Световой режим - естественный. На время эксперимента крысы содержались в пластиковых клетках по 3-4 головы. Все животные были разделены на 5 экспериментальных групп по 7 животных в каждой:

1. Контрольная группа - интактные животные ($n=7$). У этих крыс была измерена эвакуаторная активность кишечника (по методике описанной ниже), а также взяты образцы содержимого тощей и слепой кишок для микробиологического исследования.
2. Группа «Дайго» - группа с введением тестируемого раствора Дайго у интактных животных ($n=7$). Крысам ежедневно однократно в течение 14 суток перорально вводился тестируемый раствор Дайго. На 15 сутки эксперимента у крыс была измерена эвакуаторная активность кишечника (по методике описанной ниже), а также взяты образцы содержимого тощей и слепой кишок для микробиологического исследования.
3. Группа «Дисбиоз» - группа с экспериментальным дисбиозом ($n=7$). Крысам ежедневно однократно в течение 7 суток перорально вводили раствор антибиотиков. На 8 сутки эксперимента у крыс была измерена эвакуаторная активность кишечника (по методике описанной ниже), а также взяты образцы содержимого тощей и слепой кишок для микробиологического исследования.
4. Группа «Дисбиоз+Дайго» - группа с экспериментальным дисбиозом и с корригирующим введением тестируемого раствора Дайго ($n=7$). Крысам ежедневно однократно в течение 7 суток перорально вводился раствор антибиотиков. С 8 до 21-й день перорально вводился тестируемый раствор Дайго. На 22-й день эксперимента у крыс была измерена эвакуаторная активность кишечника (по методике описанной ниже), а также взяты образцы содержимого тощей и слепой кишок для микробиологического исследования.
5. Группа «Дайго+Дисбиоз» - группа с профилактирующим введением тестируемого раствора Дайго и последующим введением антибиотика ($n=7$). Крысам ежедневно однократно в течение 14 суток перорально вво-

дился тестируемый раствор Дайго. Затем с 15 до 21-й день перорально вводился раствор антибиотиков. На 22-й день эксперимента у крыс была измерена эвакуаторная активность кишечника (по методике описанной ниже), а также взяты образцы содержимого тощей и слепой кишок для микробиологического исследования.

Дозы, схема и способ введения

Антибиотики и исследуемый продукт вводились перорально, ежедневно с 9 до 11 утра. (Рис. 2).

Перед введением каждое животное взвешивалось, и производился расчет дозы препарата с учетом индивидуальной массы тела крысы. «Дайго»: 0,33 мл на 1000 гр массы тела.

Антибиотики:

- амоксицилин- 28,5 мг/кг
- метронидазол-22,8 мг/кг

Антибиотики растворялись в воде для инъекций.

Вскрытие

Было проведено вскрытие всех животных. При вскрытии исследовали внешнее состояние тела, внутренние поверхности и проходы, грудную, брюшную и тазовую полости с находящимися в них органами и тканями, шею с органами и тканями, каркас и скелетно-мышечную систему. Все отклонения от нормы документировались. На усмотрение патологоанатома делались фотографии участков с макроскопическими изменениями, которые могли быть связаны с повреждающим действием вещества.



Рис. 2. Введение препарата с помощью зонда

12. Сбор проб для бактериологического исследования

Для забора проб выделяли участок тощей кишки на расстоянии 15 см от связки Трейтца длиной 5 см. В стерильную пробирку специальной лопаточкой брали кишечное содержимое (для исследования полостной микрофлоры тощей кишки). Далее выделенный участок тощей кишки промывали стерильным физиологическим раствором, производили соскоб пристеночного слоя (для исследования пристеночной микрофлоры тощей кишки) и помещали пробу в стерильную пробирку. Далее выделяли слепую кишку. В стерильную пробирку специальной лопаточкой брали кишечное содержимое (для исследования полостной микрофлоры слепой кишки).

13. Методы исследования

Измерение эвакуаторной активности тонкой кишки

Измерение эвакуаторной активности тонкой кишки у экспериментальных животных производилось с помощью инертного маркера Evans Blue.

Бактериологические исследования

Микробиологическое исследование кала и содержимого тощей и слепой кишок проводилось в соответствии с нормативными документами, принятыми для исследования кала у людей: отраслевым стандартом 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Были изучены 9 групп микроорганизмов (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* (E.coli), *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* spp., неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ), *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp.).

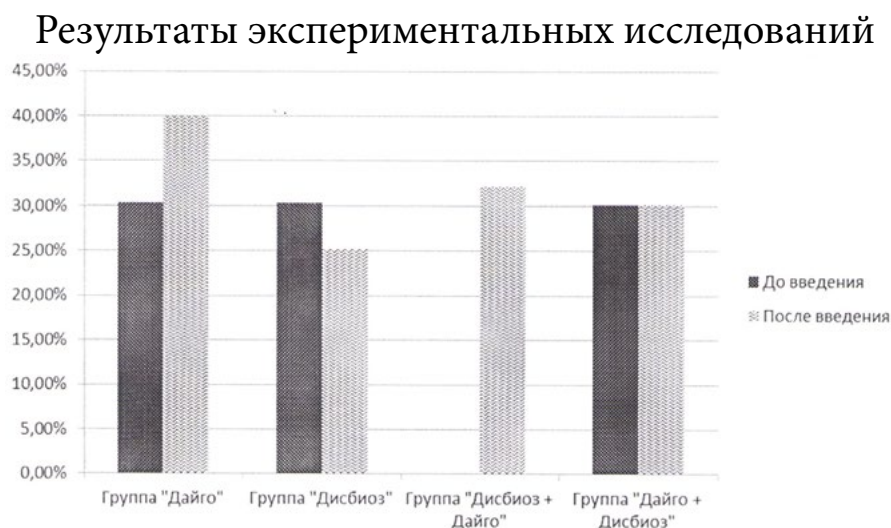


Рис. 3. Сравнение групп животных с введением антибиотиков и Дайго.

14. Оценка эффективности влияния Дайго на показатели эвакуаторной функции тонкой кишки

Влияние Дайго на эвакуаторную активность тонкой кишки здоровых животных (группа «Дайго»)

При изучении влияния 14-дневного приема Дайго у здоровых животных на эвакуаторную функцию тонкой кишки была выявлена тенденция к ускорению транзита содержимого по кишечнику по сравнению с контрольной группой - с 30,34 (19,56;44,55)% до 39,99 (37,31;49,72)% ($p>0,05$).

Изменение эвакуаторной активности тонкой кишки при экспериментальном дисбиозе (группа «Дисбиоз»)

Через 7 дней приема антибиотиков (амоксцицилина+метронидазола) у животных было выявлено статистически значимое замедление транзита содержимого по кишечнику по сравнению с контрольной группой - с 30,34 (19,56; 44,55)% до 25,17 (23,41; 31,84)% ($p<0,05$).

Изменение эвакуаторной активности тонкой кишки при корригирующем введении Дайго после моделирования экспериментального дисбиоза (группа «Дисбиоз+Дайго»)

В этой серии крысам ежедневно однократно в течение 7 суток перорально вводился раствор антибиотиков. С 8 до 21-й день перорально вводился тестируемый раствор Дайго. Измерения осуществлялись на 22-й день эксперимента.

При изучении изменений эвакуаторной функции тонкой кишки у животных группы «Дисбиоз+Дайго» выявлена тенденция к усилению транзита по кишечнику до 32,17 (24,05; 37,76)% по сравнению с группой «Дисбиоз» - 25,17 (23,41; 31,84)% ($p>0,05$). При сравнении изменений эвакуаторной функции тонкой кишки у животных группы «Дисбиоз+Дайго» с контрольной группой статистически значимых различий не выявлено. Так, в группе «Дисбиоз+Дайго» индекс транзита составлял - 32,17 (24,05; 37,76)%, а в контрольной – 30,34 (19,56; 44,55)% ($p>0,05$), что свидетельствовало о нормализации транзита кишечного содержимого после приема Дайго.

Изменение эвакуаторной активности тонкой кишки при профилактирующем введении Дайго до моделирования экспериментального дисбиоза (группа «Дайго+Дисбиоз»)

В этой серии крысам ежедневно однократно в течение 14 суток перорально вводился тестируемый раствор Дайго. Затем с 15 до 21-й день перорально вводился раствор антибиотиков. Измерения осуществлялись на 22-й день эксперимента.

При сравнении изменений эвакуаторной функции тонкой кишки у животных группы «Дайго+Дисбиоз» по отношению к группе «Дисбиоз» вы-

явлена тенденция к ускорению транзита содержимого по кишечнику. Так, в группе «Дайго+Дисбиоз» индекс транзита составлял - 30,16 (28,36; 36,15)%, а в группе «Дисбиоз» – 25,17 (23,41; 31,84)% ($p>0,05$).

При сравнении изменений эвакуаторной функции тонкой кишки у животных группы «Дайго+Дисбиоз» с контрольной группой статистически значимых различий не выявлено. Так, в группе «Дайго+Дисбиоз» индекс транзита составлял - 30,16 (28,36; 36,15)%, а в контрольной – 30,34 (19,56; 44,55)% ($p>0,05$), что свидетельствовало о нормализации транзита кишечного содержимого при приеме Дайго.

Таким образом, при моделировании экспериментального дисбиоза происходит нарушение эвакуаторной функции тонкой кишки, выражающееся в замедлении скорости транзита содержимого по кишечнику. Введение Дайго как с целью коррекции, так и с целью профилактики дисбиоза приводит к нормализации эвакуаторной функции тонкой кишки.

15. Оценка влияния Дайго на состав микрофлоры различных отделов кишечника в эксперименте

Влияние Дайго на состав микрофлоры различных отделов кишечника здоровых животных (группа «Дайго»)

Результаты изучения влияния 14-дневного приема Дайго у здоровых животных на состав микрофлоры тощей и слепой кишок представлены в таблице 1.

Анализ микрофлоры тощей кишки показал, что после 14-дневного приема Дайго у здоровых животных наблюдается статистически значимое увеличение количества *Lactobacillus* spp. - в 100 раз в полости тощей кишки и в 10 раз в пристеночном слое. Кроме того, происходит значимое увеличение *Bifidobacterium* spp. в полости тощей кишки (в 100 раз). В слепой кишке наблюдается статистически значимое увеличение *E.coli* (в 100 раз) и снижение *Bifidobacterium* spp. (в 10 раз).

Таблица 1.

Данные бактериологического исследования микрофлоры
тощей и слепой кишок

Примечание.

Вид микроорганизмов	Тощая кишка полостная микрофлора		Тощая кишка пристеночная микрофлора		Слепая кишка полостная микрофлора	
	Контроль интактные	Дайго	Контроль интактные	Дайго	Контроль интактные	Дайго
<i>Staphylococcus</i> spp.	0(0;0)	0(0;10 ²)	0	0	10 ⁴ (10 ³ ;10 ⁵)	10 ⁴ (0;10 ⁵)
<i>Enterococcus</i> spp.	0(0;10 ²)	10(0;10 ³)	0	0	10 ⁴ (0;10 ⁵)	10 ⁶ (10 ⁴ ;10 ⁶)
<i>E.coli</i>	0(0;10 ²)	0(0;0)	0(0;0)	10(0;10 ⁴)	10 ⁵ (10 ⁵ ;10 ⁶)	10⁷(10⁷;10⁸)*
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0	0	0	10 ² (0;10 ³)
<i>Enterobacter</i> spp.	0	0	0	0(0;0)	0	0
<i>kl.pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0
Плесневые грибы	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus</i> spp.	10 ³ (10 ³ ;10 ⁴)	10⁵(10⁵;10⁶)*	10 ³ (0;10 ³)	10⁴(10⁴;10⁵)*	10 ⁷ (10 ⁷ ;10 ⁸)	10 ⁸ (10 ⁷ ;10 ⁸)
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10 ³ (0;10 ⁴)	10⁵(10⁵;10⁵)*	10 ³ (0;10 ⁴)	10 ⁴ (10 ³ ;10 ⁴)	10 ⁷ (10 ⁷ ;10 ⁷)	10⁶(10⁶;10⁶)*

*- $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении с «Контролем»;
0 – отсутствуют у всех животных.

Таким образом, 14-дневный прием Дайго у здоровых животных приводит к изменению нормофлоры как в тонкой, так и слепой кишках. В тонкой кишке как в полости, так и пристеночном слое наблюдается увеличение количества *Lactobacillus* spp. Кроме того, происходит перераспределение бифидобактерий между верхними и нижними отделами кишечника – наблюдается увеличение их количества в полости тонкой кишки и снижение в слепой.

Изменение состава микрофлоры различных отделов кишечника при экспериментальном дисбиозе (группа «Дисбиоз»)

Результаты изучения влияния 7-дневного приема антибиотиков (амоксциклина+метронидазола) на состав микрофлоры тощей и слепой кишок представлены в таблице 2.

Анализ микрофлоры тощей кишки показал, что при экспериментальном дисбиозе развиваются существенные нарушения в качественном и количественном составе микрофлоры как в тощей, так и слепой кишке. Так,

в полости тощей кишки у некоторых животных обнаружилось появление *Proteus mirabilis*, *Enterobacter* spp. и *kl.pneumoniae*, в пристеночном слое тощей кишки высевались *Enterococcus* spp., *Proteus mirabilis*, *Enterobacter* spp. и *kl.pneumoniae*. В слепой кишке выявлялось появление *Proteus mirabilis*, *Enterobacter* spp. и *kl.pneumoniae*. Отметим, что в контрольной группе эти микроорганизмы не обнаруживались ни у одного животного.

В полости тощей кишки статистически значимо увеличилось количество *Enterococcus* spp., *E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp., в пристеночном слое тощей кишки статистически значимо повысилась численность *Enterococcus* spp., *E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter* spp. и *Lactobacillus* spp. В слепой кишке изменения в количественном отношении микроорганизмов по отношению к контролю были статистически значимы для всех изученных видов, за исключением *kl.pneumoniae*. Так, выявлено увеличение в 100 раз количества *Enterococcus* spp. и *E.coli*, а количество *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. было снижено.

Таблица 2.

Данные бактериологического исследования микрофлоры тощей и слепой кишок в контрольной и группе «Дисбиоз».

Вид микроорганизмов	Тощая кишка полостная микрофлора		Тощая кишка пристеночная микрофлора		Слепая кишка полостная микрофлора	
	Контроль интактные	Дисбиоз	Контроль интактные	Дисбиоз	Контроль Интактные	Дисбиоз
<i>Staphylococcus</i> spp.	0(0;0)	0	0	0 (0;0)	$10^4(10^3;10^5)$	0(0;0)*
<i>Enterococcus</i> spp.	0(0;10 ²)	$10^4(10^4;10^4)^*$	0	$10^3(0;10^3)^*$	$10^4(0;10^5)$	$10^6(10^5;10^8)^*$
<i>E.coli</i>	0(0;10 ²)	$10^3(10^3;10^4)^*$	0(0;0)	$10^4(10^2;10^4)^*$	$10^5(10^5;10^6)$	$10^7(10^6;10^7)^*$
<i>Proteus mirabilis</i>	0	$10^3(10^3;10^4)^*$	0	$10^2(0;10^2)^*$	0	$10^4(0;10^5)^*$
<i>Enterobacter</i> spp.	0	0(0;10 ⁶)	0	$10^4(0;10^5)^*$	0	$10^6(0;10^8)^*$
<i>kl.pneumoniae</i>	0	0(0;10 ⁵)	0	0(0;10 ²)	0	0(0;10 ⁵)
Плесневые грибы	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus</i> spp.	$10^3(10^3;10^4)$	$10^5(10^5;10^6)^*$	$10^3(0;10^3)$	$10^5(10^4;10^5)^*$	$10^7(10^7;10^8)$	$10^6(10^5;10^6)^*$
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$10^3(0;10^4)$	$10^5(10^5;10^5)^*$	$10^3(0;10^4)$	$10^4(10^4;10^5)$	$10^7(10^7;10^7)$	$10^5(10^5;10^6)^*$

Примечание.

0 - отсутствуют у всех животных

*- $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении с «Контролем»

Таким образом, 7-дневный прием антибиотиков (амоксициклина +ме-

тронидазола) приводит к существенным нарушениям в качественном и количественном составе микрофлоры как в тощей, так и слепой кишке. Такие изменения, проявляющиеся в повышении количества *E.coli* в тонкой и слепой кишках, в перераспределении лакто- и бифидобактерий между верхними и нижними отделами кишечника (уменьшение их количества в слепой и увеличение в тонкой), а также в появлении условно-патогенных видов микроорганизмов, не характерных для здоровых животных в тонкой и слепой кишке могут свидетельствовать о возникновении дисбактериоза 3 степени.

Изменение микрофлоры тощей и слепой кишок при корригирующем введении Дайго после моделирования экспериментального дисбиоза (группа «Дисбиоз+Дайго»)

В этой серии крысам ежедневно однократно в течение 7 суток перорально вводился раствор антибиотиков. С 8 до 21-й день перорально вводился тестируемый раствор Дайго. Измерения осуществлялись на 22-й день эксперимента.

Данные бактериологического исследования микрофлоры тощей и слепой кишок представлены в таблице 3.

Анализ микрофлоры тощей кишки показал, что у животных с введением Дайго на фоне экспериментального дисбиоза наблюдаются существенные изменения в качественном и количественном составе микрофлоры как в тощей, так и слепой кишке по сравнению с животными с дисбиозом. Так, в полости тощей кишки у всех животных исчезли *Enterobacter spp.* и *kl.pneumoniae*, в пристеночном слое тощей кишки исчезли *Enterococcus spp.*, *E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp.* и *kl.pneumoniae*. В слепой кишке исчезли *Proteus mirabilis* и *kl.pneumoniae*.

В полости тощей кишки статистически значимо уменьшилось количество *Enterococcus spp.*, *E.coli*, *Proteus mirabilis*, в пристеночном слое тощей кишки статистически значимо понизилась численность *Bifidobacterium spp.* В слепой кишке статистически значимо увеличилось количество *Staphylococcus spp.*

Таблица 3.

Данные бактериологического исследования микрофлоры тощей и слепой кишок в группе животных с корригирующим введением Дайго на фоне экспериментального дисбиоза и группой с дисбиозом

Вид микроорганизмов	Тощая кишка полостная микрофлора		Тощая кишка пристеночная микрофлора		Слепая кишка полостная микрофлора	
	Дисбиоз	Дисбиоз+ Дайго	Дисбиоз	Дисбиоз+ Дайго	Дисбиоз	Дисбиоз+ Дайго
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	0	0	0	0	10 ³ (0;10 ⁴)*
<i>Enterococcus</i> spp.	10 ⁴ (10 ⁴ ;10 ⁴)	0(0;10 ³)*	10 ³ (0;10 ³)	0	10 ⁶ (10 ⁵ ;10 ⁸)	10 ⁵ (10 ⁵ ;10 ⁶)
<i>E.coli</i>	10 ³ (10 ³ ;10 ⁴)	0(0;10 ²)*	10 ⁴ (10 ² ;10 ⁴)	0	10 ⁷ (10 ⁶ ;10 ⁷)	10 ⁴ (10 ⁴ ;10 ⁷)
<i>Proteus mirabilis</i>	10 ³ (10 ³ ;10 ⁴)	0(0;0)*	10 ² (0;10 ²)	0	10 ⁴ (0;10 ⁵)	0
<i>Enterobacter</i> spp.	0(0;10 ⁶)	0	10 ⁴ (0;10 ⁵)	0	10 ⁶ (0;10 ⁸)	0(0;10 ⁵)
<i>Kl.pneumoniae</i>	0(0;10 ⁵)	0	0(0;10 ²)	0	0(0;10 ⁸)	0
Плесневые грибы	0	0(0;0)	0	0	0	0
<i>Lactobacillus</i> spp.	10 ⁵ (10 ⁵ ;10 ⁶)	10 ⁵ (10 ⁵ ;10 ⁵)	10 ⁵ (10 ⁴ ;10 ⁵)	10 ⁴ (10 ⁴ ;10 ⁴)	10 ⁶ (10 ⁵ ;10 ⁶)	10 ⁶ (10 ⁵ ;10 ⁶)
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10 ⁵ (10 ⁵ ;10 ⁵)	10 ⁵ (10 ⁵ ;10 ⁵)	10 ⁴ (10 ⁴ ;10 ⁵)	0(0;10 ⁴)*	10 ⁵ (10 ⁵ ;10 ⁶)	10 ⁵ (10 ⁵ ;10 ⁶)

Примечание.

0 - отсутствуют у всех животных

*- p<0,05 отличия статистически значимы в сравнении группы «Дисбиоз+Дайго» с группой «Дисбиоз»

Таким образом, наиболее значимым эффектом корригирующего влияния Дайго на фоне экспериментального дисбиоза по сравнению с животными с дисбиозом явилось исчезновение условно-патогенной микрофлоры в пристеночном слое тонкой кишки и ее значительное снижение в полости тонкой кишки.

Приводит ли корригирующее введение Дайго на фоне экспериментального дисбиоза к нормализации микрофлоры? С этой целью было проведено сравнение данных бактериологических исследований группы животных «Дисбиоз+Дайго» с контрольной группой (таблица 4).

Анализ микрофлоры тощей кишки показал, что у животных с введением Дайго на фоне экспериментального дисбиоза отсутствуют статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой в количественном составе условно-патогенной полостной и пристеночной микрофлоры тощей кишки, что свидетельствует о нормализации численности этих видов микроорганизмов при введении Дайго на фоне экспериментального дисбиоза. Кроме того, в полости тощей кишки произошло увеличение *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. (в 100 раз) по сравнению с интактными животными, а в пристеночном слое тощей кишки в 10 раз по-

выросло количество *Lactobacillus* spp. В слепой кишке статистически значимо уменьшилось количество *Staphylococcus* spp. (в 10 раз), *Lactobacillus* spp. (в 10 раз) и *Bifidobacterium* spp. (в 100 раз) по сравнению с контрольной группой.

Таблица 4.

Данные бактериологического исследования микрофлоры тощей и слепой кишок в группе животных с корригирующим введением Дайго на фоне экспериментального дисбиоза и контрольной группой (интактные животные)

Вид микроорганизмов	Тощая кишка полостная микрофлора		Тощая кишка пристеночная микрофлора		Слепая кишка полостная микрофлора	
	Контроль интактные	Дисбиоз+Дайго	Контроль интактные	Дисбиоз+Дайго	Контроль интактные	Дисбиоз+Дайго
<i>Staphylococcus</i> spp.	0(0;0)	0	0	0	$10^4(10^3;10^5)$	$10^3(0;10^4)^*$
<i>Enterococcus</i> spp.	$0(0;10^2)$	$0(0;10^3)$	0	0	$10^4(0;10^5)$	$10^5(10^5;10^6)$
<i>E.coli</i>	$0(0;10^2)$	$0(0;10^2)$	$0(0;0)$	0	$10^5(10^5;10^6)$	$10^4(10^4;10^7)$
<i>Proteus mirabilis</i>	0	$0(0;0)$	0	0	0	0
<i>Enterobacter</i> spp.	0	0	0	0	0	$0(0;10^5)$
<i>kl.pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0
Плесневые грибы	0	$0(0;0)$	0	0	0	0
<i>Lactobacillus</i> spp.	$10^3(10^3;10^4)$	$10^5(10^5;10^5)^*$	$10^3(0;10^3)$	$10^4(10^4;10^4)^*$	$10^7(10^7;10^8)$	$10^6(10^5;10^6)^*$
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$10^3(0;10^4)$	$10^5(10^5;10^5)^*$	$10^3(0;10^4)$	$0(0;10^4)$	$10^7(10^7;10^7)$	$10^5(10^5;10^6)^*$

0 - отсутствуют у всех животных

*- $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении группы «Дисбиоз+Дайго» с контрольной группой (интактные животные)

Таким образом, корригирующее введение Дайго после моделирования экспериментального дисбиоза привело к нормализации численности условно-патогенных микроорганизмов в тощей кишке. В слепой кишке произошло снижение как условно-патогенных микроорганизмов, так и лакто- и бифидобактерий по сравнению со здоровыми животными, что может свидетельствовать об «успешной» коррекции Дайго экспериментального дисбиоза. Интересно отметить, что корригирующий прием Дайго на фоне экспериментального дисбиоза приводит к тем же самым изменениям нор-

мофлоры в тонкой и слепой кишках как прием Дайго у здоровых животных. В тонкой кишке как в полости, так и пристеночном слое наблюдается увеличение количества *Lactobacillus* spp. Кроме того, происходит перераспределение бифидобактерий между верхними и нижними отделами кишечника – наблюдается увеличение их количества в полости тонкой кишки и снижение в слепой.

Изменение микрофлоры тощей и слепой кишок при профилактирующем введении Дайго перед моделированием экспериментального дисбиоза (группа «Дайго+Дисбиоз»)

В этой серии крысам ежедневно однократно в течение 14 суток перорально вводился тестируемый раствор Дайго. Затем с 15 до 21-й день перорально вводился раствор антибиотиков. Измерения показателей осуществлялись на 22-й день эксперимента.

Данные бактериологического исследования микрофлоры тощей и слепой кишок представлены в таблице 5.

Анализ микрофлоры тощей кишки показал, что у животных с профилактирующим введением Дайго перед моделированием экспериментального дисбиоза наблюдаются существенные изменения в качественном и количественном составе микрофлоры как в тощей, так и слепой кишке по сравнению с животными с дисбиозом. Так, в полости тощей кишки у всех животных исчезли *kl.pneumoniae*, в пристеночном слое тощей кишки исчезли *Proteus mirabilis*, *Enterobacter* spp. и *kl.pneumoniae*. В слепой кишке исчезли *kl.pneumoniae*.

Кроме того, в полости тощей кишки статистически значимо уменьшилось количество *Proteus mirabilis* (в 1000 раз), в пристеночном слое тощей кишки статистически значимо понизилась численность *E.coli* (в 10000 раз). В слепой кишке статистически значимо увеличилось количество *E.coli* (в 10 раз).

Таблица 5.

Данные бактериологического исследования микрофлоры тощей и слепой кишок в группе животных с профилактирующим введением Дайго перед моделированием экспериментального дисбиоза и группой с дисбиозом

Вид микроорганизмов	Тощая кишка полостная микрофлора		Тощая кишка пристеночная микрофлора		Слепая кишка полостная микрофлора	
	Дисбиоз	Дайго+ Дисбиоз	Дисбиоз	Дайго+ Дисбиоз	Дисбиоз	Дайго+ Дисбиоз
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	0(0;0)	0	0	0	0
<i>Enterococcus</i> spp.	$10^4(10^4;10^4)$	$10^3(0;10^5)$	$10^3(0;10^3)$	0(0; 10^2)	$10^5(10^5;10^5)$	$10^7(10^5;10^9)$
<i>E.coli</i>	$10^3(10^3;10^4)$	$10^2(10^2;10^4)$	$10^4(10^2;10^4)$	0(0;10^2)*	$10^7(10^5;10^7)$	$10^8(10^8;10^8)$*
<i>Proteus mirabilis</i>	$10^3(10^3;10^4)$	0(0;10^2)*	$10^2(0;10^2)$	0*	$10^4(0;10^5)$	$10^3(0;10^3)$
<i>Enterobacter</i> spp.	0(0; 10^6)	0(0; 10^4)	$10^4(0;10^5)$	0*	$10^5(0;10^8)$	$10^7(10^5;10^8)$
<i>kl.pneumoniae</i>	0(0; 10^5)	0	0(0; 10^2)	0	0(0; 10^8)	0
Плесневые грибы	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus</i> spp.	$10^5(10^5;10^5)$	$10^5(10^5;10^5)$	$10^5(10^4;10^5)$	$10^4(10^4;10^4)$	$10^5(10^5;10^5)$	$10^5(10^5;10^7)$
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$10^5(10^5;10^5)$	$10^5(10^5;10^5)$	$10^4(10^4;10^5)$	$10^4(10^3;10^4)$	$10^5(10^5;10^5)$	$10^5(10^5;10^5)$

Примечание.

0 - отсутствуют у всех животных

*- $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении группы «Дайго+Дисбиоз» с группой «Дисбиоз»

Таким образом, наиболее значимым эффектом профилактирующего влияния Дайго перед моделированием экспериментального дисбиоза по сравнению с животными с дисбиозом явилось исчезновение и/или значительное снижение условно-патогенной микрофлоры в полости и пристеночном слое тонкой кишки.

Приводит ли профилактирующее введение Дайго перед моделированием экспериментального дисбиоза к нормализации микрофлоры? С этой целью было проведено сравнение данных бактериологических исследований группы животных «Дайго+Дисбиоз» с контрольной группой (таблица 6).

Анализ микрофлоры тощей кишки показал, что у животных с профилактирующим введением Дайго перед моделированием экспериментального дисбиоза отсутствуют статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой в количественном составе условно-патогенной пристеночной микрофлоры тощей кишки, что свидетельствует о нормализации численности этих видов микроорганизмов при введении профилактиче-

ском приеме Дайго. Кроме того, в пристеночном слое тощей кишки произошло увеличение *Lactobacillus* spp. (в 10 раз) по сравнению с интактными животными. Количественный состав условно-патогенной полостной микрофлоры тощей кишки также статистически значимо не отличался от контрольной группы за исключением *E.coli*, количество которой увеличилось в 100 раз по сравнению с контролем. Кроме того, в полости тощей кишки произошло увеличение *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. (в 100 раз) по сравнению с интактными животными. В слепой кишке наблюдалось появление *Proteus mirabilis* и *Enterobacter* spp., отмечался рост *Enterococcus* spp., и *E.coli*, снижение *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp.

Таблица 6.

Данные бактериологического исследования микрофлоры тощей и слепой кишок в группе животных с профилактирующим введением Дайго перед моделированием экспериментального дисбиоза и контрольной группой

Вид микроорганизмов	Тощая кишка полостная микрофлора		Тощая кишка пристеночная микрофлора		Слепая кишка полостная микрофлора	
	Контроль интактные животные	Дайго+ Дисбиоз	Контроль интактные животные	Дайго+ Дисбиоз	Контроль интактные животные	Дайго+ Дисбиоз
<i>Staphylococcus</i> spp.	0(0;0)	0(0;0)	0	0	$10^4(10^3;10^5)$	0*
<i>Enterococcus</i> spp.	0(0;10 ²)	$10^3(0;10^5)$	0	0(0;10 ²)	$10^4(0;10^5)$	$10^7(10^6;10^9)^*$
<i>E.coli</i>	0(0;10 ²)	$10^2(10^2;10^4)^*$	0(0;0)	0(0;10 ²)	$10^5(10^5;10^6)$	$10^8(10^8;10^8)^*$
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0(0;10 ²)	0	0	0	$10^3(0;10^3)^*$
<i>Enterobacter</i> spp.	0	0(0;10 ⁴)	0	0	0	$10^7(10^5;10^8)^*$
<i>kl.pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0
Плесневые грибы	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus</i> spp.	$10^3(10^3;10^4)$	$10^5(10^5;10^6)^*$	$10^3(0;10^3)$	$10^4(10^4;10^4)^*$	$10^7(10^7;10^8)$	$10^6(10^6;10^7)^*$
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$10^3(0;10^4)$	$10^5(10^5;10^6)^*$	$10^3(0;10^4)$	$10^4(10^3;10^4)$	$10^7(10^7;10^7)$	$10^6(10^5;10^6)^*$

Примечание.

0 - не обнаружены

*- $p < 0,05$ отличия статистически значимы в сравнении опытной группы с «Контролем»

Таким образом, профилактическое введение Дайго перед моделированием экспериментального дисбиоза привело к исчезновению условно-патогенных микроорганизмов в пристеночном слое тощей кишки и нормализации численности условно-патогенных микроорганизмов в полости тощей кишки (за исключением *E.coli*).

Как и в серии с корригирующим приемом Дайго, его профилактиче-

ское введение перед моделированием экспериментального дисбиоза приводит к тем же самым изменениям нормофлоры в тонкой и слепой кишках как прием Дайго у здоровых животных: в тонкой кишке как в полости, так и пристеночном слое наблюдается увеличение количества *Lactobacillus spp.* и происходит перераспределение бифидобактерий между верхними и нижними отделами кишечника – наблюдается увеличение их количества в полости тонкой кишки и снижение в слепой.

В целом, выполненные экспериментальные исследования и особенно, полученные результаты, позволили вынести научно-обоснованное суждение о чрезвычайно высокой эффективности инновационного функционального продукта Дайго в коррекции грубых нарушений микробного гомеостаза в условиях моделирования у крыс ассоциированного дисбиоза.

16. Дизайн клинического исследования

В исследование включена группа добровольцев (группа 1, n=7), пациенты с циррозом, находящиеся в листе ожидания трансплантации печени (группа 2, n=6), а также группа пациентов после трансплантации печени (группа 3, n=6).

Критерии включения добровольцев:

Практически здоровые люди старше 18 лет, у которых при контрольном микробиологическом исследовании кала не выявлено существенных отклонений от нормы.

Критерии включения пациентов:

- Взрослые пациенты (старше 18 лет) обоего пола;
- Тяжесть состояния по классификации Чайлда-Пью (А или В);
- В группе 3 – прием антибиотиков в течение 3-5 дней до назначения исследуемого Дайго;

Критерии исключения пациентов:

Антибактериальная терапия у пациентов в листе ожидания в течение 30 дней до момента включения в исследование (пациенты 2-ой группы);

Отсутствие антибактериальной терапии на момент включения пациентов в исследование, повторное назначение антибактериальной терапии, релапаротомия, желудочно-кишечные кровотечения, острый криз отторжения (пациенты 3 группы).

Исследуемые группы:

1) В первую группу вошли 7 добровольцев, у которых в 0-й день исследования был проведен физикальный осмотр, анкетирование качества жизни и забор кала для микробиологического анализа. Затем добровольцы принимали исследуемый Дайго 2 раза в сутки (по 2 пакетика утром и днем)

в течение 21 дня. На 22-й день у пациентов проводился физикальный осмотр, анкетирование и забор кала для бактериологического исследования.

2) Во вторую группу включили 6 пациентов с циррозом печени тяжелой степени по классификации Чайлда-Пью (А или В), у которых в 0-й день исследования проводился физикальный осмотр, анкетирование и забор кала для микробиологического анализа. Затем пациенты принимали исследуемый Дайго 2 раза в сутки (по 2 пакетика утром и днем) в течение 21-го дня. На 22-й день проводился физикальный осмотр, анкетирование и забор кала для бактериологического исследования.

3) В третью группу включили 6 пациентов после трупной трансплантации печени. С 1-го по 3-5-й дни после трансплантации пациентам назначалась профилактическая антибактериальная терапия. С 4-6-й дни пациенты принимали исследуемый Дайго 2 раза в сутки (по 2 пакетика утром и днем) в течение 21-го дня. Физикальный осмотр и анкетирование выполнялся на 4-6-й день после трансплантации и на 22-й день после приема исследуемого продукта. Микробиологический анализ кала выполнялся на 4-6-й день после трансплантации и на 22-й день после приема исследуемого продукта.

Во всех группах измерялись следующие клинические параметры:

- артериальное давление (АДсист, АДдиаст);
- частота сердечных сокращений (ЧСС);
- температура тела (t, C);
- все;
- индекс массы тела (ИМТ = вес (кг) / рост (м²);
- частота дыхательных движений (ЧДД).

Бактериологические исследования

Микробиологическое исследование кала проводилось в соответствии с нормативными документами, принятыми для исследования кала у людей: отраслевым стандартом 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Были изучены следующие виды микроорганизмов - Staphylococcus spp., Staphylococcus aureus, Enterococcus spp., Escherichia coli (E.coli), в том числе E.coli (lac-) и E.coli гемолитич., Proteus sp., Klebsiella spp., Candida sp., Kl.pneumoniae, Acinetobacter sp., Pseudomonas sp., энтеробактерии, Bifidobacterium spp. и Lactobacillus spp.

17. Оценка влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у здоровых добровольцев

При сравнении содержания различных микроорганизмов в кале здоровых добровольцев до и после приема Дайго статистически значимых отличий не выявлено. Однако, до приема Дайго у некоторых добровольцев высеивались *Staphylococcus sp*, *St.aureus* к *Acinetobacter sp*. После приема Дайго эти микроорганизмы не обнаруживались ни у одного добровольца.

Таблица 7.

Содержание различных видов микроорганизмов в кале здоровых добровольцев до и после приема Дайго (КОЕ/мл, Ме (25; 75)%)

	Здоровые добровольцы	
	до	После
Бифидобактерии	10^y (10^9 ; 10^9)	10^y (10^7 ; 10^9)
Лактобактерии	10^6 (10^6 ; 10^6)	10^0 (10^6 ; 10^6)
<i>Enterococcus sp.</i>	10^b (10^4 ; 10^6)	10^5 (10^5 ; 10^5)
<i>E. coli</i>	10^6 (10^5 ; 10^7)	10^6 (10^5 ; 10^6)
<i>E.coli</i> (lac-)	0 (0; 10^5)	0 (0; 0)
<i>E.coli</i> гемолитич	-	-
<i>Proteus sp.</i>	-	-
Энтеробактерии	-	-
<i>Staphylococcus sp.</i>	10^2 (0; 10^2)	-
<i>St.aureus</i>	0 (0; 0)	-
<i>Candida sp.</i>	-	0 (0; 0)
<i>Kl.pneumoniae</i>	-	-
<i>Acinetobacter sp.</i>	0 (0; 0)	-
<i>Pseudomonas sp.</i>	0 (0; 10^2)	0 (0; 0)

В целом, исследование влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у здоровых добровольцев показало значимое улучшение в оценке самочувствия и настроения в течение последних 4 недель, а также исчезновение условно патогенной микрофлоры толстой кишки у тех добровольцев, у которых были обнаружены эти микроорганизмы до приема Дайго.

Положительный результат от применения Дайго у добровольцев, подтвердил постулат о том, что улучшение состояния кишечной микрофлоры является залогом хорошего качества жизни и состояния здоровья. Сочетание в механизмах действия Дайго эффекта улучшения состава кишечной флоры и стимуляции иммунной системы кишечника, приводит к стимуляции кишечной перистальтики, интенсифицирует процессы переваривания и всасывания, создавая мощный фундамент для общего физического здоровья и работоспособности.

18. Оценка влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у пациентов с циррозом печени, находящихся в листе ожидания трансплантации печени

В эту группу включили 6 пациентов с циррозом печени тяжестью состояния по классификации Чайлда-Пью (Л или В), у которых в 0-й день исследования проводился физикальный осмотр, анкетирование и забор кала для микробиологического анализа. Затем пациенты принимали исследуемый Дайго 2 раза в сутки (по 2 пакетика утром и днем) в течение 21-го дня. На 22-й день проводился физикальный осмотр, анкетирование и забор кала для бактериологического исследования.

У этих пациентов до приема Дайго отмечался регулярный полуоформленный стул, наблюдались диспептические явления различной степени выраженности (боли, урчание, дискомфорт, метеоризм и др.). После приема Дайго отмечался регулярный оформленный стул, диспептических явлений не наблюдалось.

При сравнении содержания различных микроорганизмов в кале пациентов с циррозом печени, находящихся в листе ожидания до и после приема Дайго статистически значимых отличий не выявлено (таблица 9). Однако, после приема Дайго наблюдалась тенденция к увеличению содержания лактобактерий (в 10 раз) и к снижению количества *E.coli* (в 10 раз). Кроме того, до приема Дайго у некоторых пациентов высевались *Kl. pneumoniae*, *Pseudomonas sp.* и *Acinetobacter sp.* После приема Дайго эти микроорганизмы не обнаруживались ни у одного пациента.

Таблица 8.

Содержание различных видов микроорганизмов в кале пациентов с циррозом печени, находящихся в листе ожидания до и после приема Дайго (КОЕ/мл, Ме (25; 75)%).

	Пациенты с циррозом печени (лист ожидания)	
	до	После
Бифидобактерии	10^8 (10^7 ; 10^9)	10^8 (10^7 ; 10^9)
Лактобактерии	10^6 (10^6 ; 10^6)	10^7 (10^6 ; 10^8)
<i>Enterococcus</i> sp.	10^5 (10^5 ; 10^7)	10^5 (10^5 ; 10^5)
<i>E.coli</i>	10^8 (10^6 ; 10^8)	10^7 (10^3 ; 10^8)
<i>E.coli</i> (lac-)	-	0 (0; 10^3)
<i>E.coli</i> гемолитич	0 (0; 0)	0 (0; 10^3)
<i>Proteus</i> sp.	-	-
Энтеробактерии	-	0 (0; 0)
<i>Staphylococcus</i> sp.	0 (0; 0)	0 (0; 0)
<i>St.aureus</i>	-	0 (0; 0)
<i>Candida</i> sp.	0 (0; 0)	0 (0; 0)
<i>Kl.pneumoniae</i>	0 (0; 0)	-
<i>Acinetobacter</i> sp.	0 (0; 0)	-
<i>Pseudomonas</i> sp.	0 (0; 0)	-

- не обнаружены ни у одного пациента

- $p < 0,05$ отличия значений «До» и «После» статистически значимы.

В целом, исследование влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у пациентов с циррозом, находящихся в листе ожидания трансплантации печени показало улучшение их психологического самочувствия, нормализацию стула, тенденцию к повышению лактобактерии, а также исчезновение условно патогенной микрофлоры толстой кишки у тех пациентов, у которых были обнаружены эти микроорганизмы до приема Дайго.

19. Оценка влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у пациентов после операции трансплантации печени

В эту группу включили 6 пациентов после трупной трансплантации печени. С 1-го по 3-5-й дни после трансплантации пациентам назначалась профилактическая антибактериальная терапия. С 4-6-й дни пациенты принимали исследуемый Дайго 2 раза в сутки (по 2 пакетика утром и днем) в течение 21-го дня. Физикальный осмотр и анкетирование выполнялся на 4-6-й день после трансплантации и на 22-й день после приема исследуемого продукта. Микробиологический анализ кала выполнялся на 4-6-й день после трансплантации и на 22-й день после приема исследуемого продукта.

По результатам анкетирования оценки качества жизни у пациентов после трансплантации печени после приема Дайго отмечена тенденция к улучшению самочувствия, настроения и состояния здоровья.

У этих пациентов до приема Дайго отмечалось изменение консистенции стула (от жидкого до полуоформленного), наблюдались диспептические явления различной степени выраженности (боли, урчание, дискомфорт, метеоризм и др.). После приема Дайго отмечался регулярный оформленный стул, диспептических явлений не наблюдалось.

При сравнении содержания различных микроорганизмов в кале пациентов после трансплантации печени до и после приема Дайго статистически значимых отличий не выявлено (таблица 10). Однако, до приема Дайго у некоторых пациентов высевались *Staphylococcus sp.* и *St.aureus*. После приема Дайго эти микроорганизмы не обнаруживались ни у одного пациента. Кроме того, до приема Дайго значительное количество *Candida sp.* было обнаружено практически у всех пациентов (103 (0;104) КОЕ/мл). После приема Дайго эти микроорганизмы не обнаруживались у большинства пациентов.

Таблица 10.

Содержание различных видов микроорганизмов в кале пациентов после трансплантации печени до и после приема Дайго (КОЕ/мл, Ме (25; 75)%).
- не обнаружены ни у одного добровольца

	Трансплантация печени	
	до	После
Бифидобактерии	10^8 (10^7 ; 10^9)	10^7 (10^7 ; 10^7)
Лактобактерии	10^6 (10^6 ; 10^6)	10^6 (10^6 ; 10^6)
<i>Enterococcus</i> sp.	10^6 (10^6 ; 10^7)	10^7 (10^6 ; 10^8)
<i>E.coli</i>	10^4 (10^3 ; 10^6)	10^6 (10^6 ; 10^*)
<i>E.coli</i> (lac-)	0 (0; 10^3)	0 (0; 10^6)
<i>E.coli</i> гемолитич	-	-
<i>Proteus</i> sp.		-
Энтеробактерии	0 (0; 0)	0 (0; 0)
<i>Staphylococcus</i> sp.	0 (0; 10^2)	-
<i>St. aureus</i>	0 (0; 0)	-
<i>Candida</i> sp.	10^3 (0; 10^4)	0 (0; 0)
<i>Kl.pneumoniae</i>	0 (0; 10^6)	0 (0; 10^6)
<i>Acinetobacter</i> sp.	-	-
<i>Pseudomonas</i> sp.	-	-

- $p < 0,05$ отличия значений «До» и «После» статистически значимы.

Таким образом, исследование влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у пациентов после трансплантации печени показало тенденцию к улучшению самочувствия, настроения и состояния здоровья. У этих пациентов после приема Дайго наблюдалась восстановление параметров сердечно-сосудистой и дыхательной систем, отмечался регулярный оформленный стул, диспептических и нежелательных явлений не наблюдалось. После трансплантации печени и массивной антибиотикотерапии значительное количество *Candida* sp. было обнаружено практически у всех пациентов. После приема Дайго эти микроорганизмы не обнаруживались у большинства пациентов. Кроме того, отмечалось исчезновение условно патогенной микрофлоры толстой кишки у тех пациентов, у которых были обнаружены эти микроорганизмы до приема Дайго.

20. Заключение

Как известно, дисбактериоз кишечника - это синдром, сопутствующий многим патологическим состояниям и являющийся, в сущности, следствием патологического процесса. Среди многих причин возникновения дисбактериоза значимое место занимают нарушения микробиоценоза вследствие приема антибактериальных препаратов антибиотико-ассоциированная диарея (ААД). Современные антибиотики являются основными средствами борьбы с инфекционными заболеваниями бактериальной природы. Часто вследствие бесконтрольного их использования отмечается гибель не только патогенных микроорганизмов в естественных биотопах, но и представителей нормальной микрофлоры человека.

Для более адекватной коррекции дисбиотических нарушений в кишечнике людей целесообразно в эксперименте на лабораторных животных выявить факторы и условия, способствующие формированию дисбактериоза. В данном исследовании экспериментальный антибиотико-ассоциированный дисбиоз у крыс был вызван пероральным введением двух антибиотиков широкого спектра действия амоксицилина и метронидазола на протяжении 7 дней. Было показано, что 7-дневный прием антибиотиков приводит к существенным нарушениям в качественном и количественном составе микрофлоры как в тощей, так и слепой кишке. Такие изменения, проявляющиеся в повышении количества *E.coli* в тонкой и слепой кишках, в перераспределении лакто- и бифидобактерий между верхними и нижними отделами кишечника (уменьшение их количества в слепой и увеличение в тонкой), а также в появлении условно-патогенных видов микроорганизмов, не характерных для здоровых животных в тонкой и слепой кишке могут свидетельствовать о возникновении тяжелого дисбактериоза (3 степени). Глубокие дисбиотические изменения в кишечнике у крыс сопровождались нарушением эвакуаторной функции кишечника, выражающиеся в замедлении транзита кишечного содержимого.

Экспериментальное изучение влияния на эвакуаторную функцию тонкой кишки и кишечную микрофлору Дайго, представляющего собой смесь пептидов-биорегуляторов, экстрагированных из бактериальных клеток 16 штаммов лактобактерий, проводилось на здоровых крысах и в условиях дисбиоза.

Было показано, что 14-дневное введение Дайго здоровым животным приводит к изменению нормофлоры как в тонкой, так и слепой кишках. В тонкой кишке как в полости, так и пристеночном слое наблюдается увеличение количества лактобактерий. Кроме того, происходит перераспреде-

ние бифидобактерий между верхними и нижними отделами кишечника — наблюдается увеличение их количества в полости тонкой кишки и снижение в слепой. Эти изменения нормофлоры сопровождаются незначительным изменением эвакуаторной функции кишечника, выражающиеся в тенденции к ускорению транзита кишечного содержимого.

В условиях дисбиоза было выполнено две серии экспериментальных исследований с целью изучения корригирующего и профилактирующего действия Дайго.

Корригирующее введение Дайго после развития экспериментального дисбиоза привело к нормализации численности условно-патогенных микроорганизмов в тощей кишке. В слепой кишке произошло снижение как условно-патогенных микроорганизмов, так и лакто- и бифидобактерий по сравнению со здоровыми животными, что может свидетельствовать об «успешной» коррекции Дайго экспериментального дисбиоза. Эти изменения микрофлоры сопровождались восстановлением эвакуаторной функции кишечника.

Профилактическое введение Дайго перед моделированием экспериментального дисбиоза привело к исчезновению условно-патогенных микроорганизмов в пристеночном слое тощей кишки и нормализации численности условно-патогенных микроорганизмов в полости тощей кишки (за исключением *E.coli*). Эти изменения микрофлоры сопровождались нормализацией эвакуаторной функции кишечника.

Как корригирующее, так и профилактическое введение Дайго приводило к тем же самым изменениям нормофлоры в тонкой и слепой кишках как прием Дайго у здоровых животных: в тонкой кишке как в полости, так и пристеночном слое наблюдалось увеличение количества лактобактерий и происходило перераспределение бифидобактерий между верхними и нижними отделами кишечника - выявлялось увеличение их количества в полости тонкой кишки и снижение в слепой.

Таким образом, проведенные исследования на крысах показали значительную эффективность Дайго как в профилактике, так и коррекции нарушений эвакуаторной активности тонкой кишки и микробиоценоза кишечника при экспериментальном дисбиозе.

Исследование влияния Дайго на изменение общего состояния здоровья, клинические параметры, количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки у -здоровых добровольцев показало значимое улучшение в оценке самочувствия и настроения в течение последних 4 недель. Выявлено исчезновение условно патогенной микрофлоры толстой кишки у тех добровольцев, у которых были обнаружены эти микроорганизмы до приема Дайго.

Группа пациентов с циррозом печени, находящихся в листе ожидания трансплантации печени, относится к тяжелому контингенту больных, качество жизни которых значительно снижено. У этих пациентов наблюдались диспептические явления различной степени выраженности (боли, урчание, дискомфорт, метеоризм и др.). При микробиологическом анализе кала выявлялись условно патогенные микроорганизмы, такие как *Kl.pneumoniae*, *Pseudomonas sp.* и *Acinetobacter sp.* После приема Дайго у этой группы пациентов отмечалось улучшение их психологического самочувствия, нормализация стула и отсутствие диспептических явлений. При бактериологическом анализе кала обнаружена тенденция к повышению лактобактерий, а также исчезновение условно патогенной микрофлоры толстой кишки у тех пациентов, у которых были выявлены эти микроорганизмы до приема Дайго.

В группе пациентов, перенесших трансплантацию печени, все больные наряду с Дайго получали базисную терапию, соответствующую диагнозу заболевания. Отметим, что базисное лечение включало профилактическую антибиотикотерапию в течение 3-5 дней после операции. У этой категории больных после операции на фоне антибиотикотерапии было значительно снижено качество жизни, наблюдались диспептические явления различной степени выраженности (боли, урчание, дискомфорт, метеоризм и др.), нарушение консистенции и регулярности стула. При микробиологическом анализе кала у некоторых пациентов высеивались *Staphylococcus sp.* и *St.aureus*. Кроме того, значительное количество *Candida sp.* было обнаружено практически у всех пациентов. Прием Дайго у пациентов после трансплантации печени показал тенденцию к улучшению самочувствия, настроения и состояния здоровья. У этих пациентов после приема Дайго наблюдалась восстановление параметров сердечно-сосудистой и дыхательной систем, отмечался регулярный оформленный стул, диспептических и нежелательных явлений не наблюдалось. При бактериологическом анализе кала отмечалось исчезновение условно патогенной микрофлоры толстой кишки у тех пациентов, у которых были обнаружены эти микроорганизмы до приема Дайго. Особо следует отметить исчезновение дрожжеподобных грибов *Candida sp.* у большинства пациентов. Известно, что антибиотики широкого спектра действия при длительном применении подавляют развитие нормальной микрофлоры, что позволяет условно-патогенным и патогенным микроорганизмам, нечувствительным к данному антибиотику беспрепятственно размножаться. Грибки рода *Candida* не уничтожаются обычными антибиотиками, поэтому при их применении начинают активно размножаться. Более того, антибиотики стимулируют рост грибов рода *Candida*. Лактобактерии являются конкурирующими микроорганизмами с грибами.

Этим объясняется высокая эффективность Дайго, содержащего 16 штаммов лактобактерии в подавлении роста грибов *Candida*.

Таким образом, клиническое исследование эффективности Дайго у здоровых добровольцев и двух групп пациентов с циррозом печени показало хорошую переносимость продукта, отсутствие каких-либо негативных побочных, в том числе аллергических реакции, улучшение общего состояния здоровья и положительное корригирующее влияние на микробиоценоз толстой кишки.

21. Литература

1. Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром. Современное состояние проблемы. -М: ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 304 с.
2. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание: в 3-х т. Т.1. Микрофлора человека и животных и ее функции. -М.:Грантъ, 1998.- 288 с.
3. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание: в 3-х т. Т.2. Социально-экологические и клинические последствия дисбаланса микробной экологии человека и животных. -М.: Грантъ, 1998.-413 с.
4. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание: в 3-х т. Т.3. Пробиотики и функциональное питание. -М.: Грантъ, 1998.- 287 с.
5. Czerucka, D., Rampal, P. Experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens // *Microb. and Infect.*-2002.-Vol. 4. - P. 733-739.
6. Furushiro M. et al. Blood Pressure-lowering effect of extract from *Lactobacillus casei* in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) // *Agric. Biol. Chem.*- 1990.-Vol. 54,N.9.-P. 2193-2198.
7. Gibson G.R., Roberfroid M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics // *J. Nutr.* -1995. -Vol.125,N.6.-P.1401-1412.
8. Gonsalez S.N. et al. Biotherapeutic role of fermented milk // *Biotherapy.* -1994. -Vol.8, N.2.-P.126-134.
9. Hong, H.A., Due L.H., Cutting S.M. The use of bacterial spore formers as probiotics // *FEMS Microbiol. Rev.* - 2005.-V.ol. 29, Rev. N 4. - P. 813-835.
10. Ю.Ю. Junjie Qin et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing // *Nature.* - 2010.-Vol. 464. - P. 59-65.
11. И.И. Kurokawa K. et al. Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes // *DNA Res.* - 2007. - Vol.14, N4.-P.169-181.

12. Lee D.K. et al. Anti-proliferative effects of Bifidobacterium adolescentis SPM0212 extract on human colon cancer cell lines // BMC Cancer. - 2008. -8:310.
13. Moore W.E.C., Holdeman L.V. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians // Appl. Microbiol. - 1974. - Vol.27, N 5. - P.961-979.
14. Ohkawara, S., Furuya H., Nagashima, K., Asanuma, N., Hino, T. Oral Administration of Butyrivibrio fibrisolvens, a Butyrate-Producing Bacterium, Decreases the Formation of Aberrant Crypt Foci in the Colon and Rectum of Mice // J. Nutr. - 2005.-Vol.135.-P. 2878-2883.
15. 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.
16. Takahashi S. et al. Activation of CD1d-independent NK1.1+T cells in the large intestine by Lactobacilli // Immunology Letters. - 2006. Vol 11 02, N 1 -P.74-78.