

Шевалье Кристина Александровна

Современные пробиотические препараты, их сравнительная характеристика и технологические требования производства

1. ВВЕДЕНИЕ

1.1 Актуальность

Вследствие широкого применения антибиотиков нарушение микрофлоры организма человека становится частым явлением и влечет за собой появление устойчивости к ним патогенной микрофлоры. Препараты, нормализующие микрофлору кишечника (пробиотики и пребиотики), имеют позитивное влияние на естественные защитные силы организма и снижение риска инфекционных заболеваний. Этот факт является в настоящее время одним из самых серьезных аргументов для их широкого использования среди населения.

Эффективность применения пробиотиков для нормализации кишечной микрофлоры до сих пор является предметом всесторонних научных споров, тем не менее они представляют собой один из важных товаров на мировом фармацевтическом рынке. На настоящий момент широкому кругу потребителей доступны сотни пробиотических продуктов питания и препараты, производители которых обещают решение самых разнообразных проблем со здоровьем.

В клинической практике тема применения пробиотиков по-прежнему актуальна, поэтому количество научных статей, посвященных различным аспектам этой проблемы, стремительно увеличивается. Как видно из литературных данных, проводимые исследования соответствуют высоким требованиям доказательной медицины: рандомизированные контролируемые исследования, мета-анализы и систематические обзоры.

Влияние неблагоприятных био-, техно- и социогенных факторов, интенсивность которых зачастую превышает компенсаторные возможности микробиологической системы человека, воздействует на нас практически с рождения и сопровождает постоянно. Нарушения микрофлоры человеческого организма наблюдаются в патогенезе большого количества заболеваний различной этиологии, поэтому проблема коррекции дисбиозов относится к общемедицинской. Обеспечение практического здравоохранения широким арсеналом эффективных и доступных пробиотических препаратов, предназначенных для поддержания и восстановления нормальной микрофлоры организма человека, является необходимым. Основные направления прикладных исследований в области пробиотиков: разработка новых препаратов с достаточно высокой биологической активностью; изготовление новых лекарственных форм и оптимизация технологического

процесса. Массовый выпуск препаратов для бактериотерапии должен быть обеспечен строгим контролем за соблюдением технологии их производства.

Проведенные в последние годы клинические исследования открывают новые стороны положительного воздействия пробиотиков на физическое состояние человека. Результаты таких клинических испытаний расширяют сферу их применения (акушерство и гинекология, стоматология, дерматология и др.) и показывают необходимость в лекарственных формах, адекватных новым способам аппликации и требованиям к потребительским свойствам препаратов (суппозитории, мази, кремы, порошки, капсулы, таблетки). В связи с этим актуальным является разработка и усовершенствование технологий производства новых лекарственных форм пробиотиков, которые в настоящее время выпускаются в основном в виде сухой биомассы во флаконах (ампулах).

Также при разработке пробиотиков нового поколения перспективными считаются препараты на основе биологически активных метаболитов бактерий - представителей нормальной микрофлоры организма человека.

Цель исследования

Анализ характеристик, механизмов действия современных пробиотических препаратов разных стран-производителей и особенностей технологических требований, предъявляемых к выпуску пробиотиков.

Объект исследования

Пробиотические препараты разных стран-производителей, общие технологические требования к производству пробиотиков.

Задачи исследования

1. Рассмотреть классификацию пробиотических препаратов, их различия, достоинства и недостатки.
2. Выполнить сравнительную оценку пробиотических препаратов разных стран-производителей (Германия, Россия, Польша и Великобритания), их составов, лекарственных форм.
3. Обобщить технологические требования производства пробиотических препаратов.
4. Провести эксперимент по установлению скорости роста бифидобактерий, содержащихся в препаратах Баксет Форте и Бифидумбактерин, и дрожжевых грибов препарата Нормобакт в бактериологической лаборатории по методикам «Посев пробиотиков на

питательную среду», подтвердить наличие полезных бактерий в данных препаратах.

5. Провести социологический опрос по выяснению осведомленности и опыта использования пробиотических препаратов. Анализ результатов опроса.

Новизна работы: Установлено, что пробиотический препарат имеет лучшую скорость роста на питательной среде.

Теоретическая и методологическая основа написания дипломной работы

При написании дипломной работы были использованы:

Патентный поиск по теме дипломной работы;

Бактериальный посев суспензий пробиотиков в стерильном 0,9 % растворе хлорида натрия на питательные среды Блаурокка, Лактобакагар, Сабуро;

Социологический метод (анкетирование).

Определение и отличия про- и пребиотиков, их достоинства и недостатки

Препараты, содержащие живые микроорганизмы, относящиеся к нормальной микрофлоре кишечного тракта, называются пробиотиками. Они имеют положительное действие на человеческий организм, способствуют восстановлению пищеварения, биологического статуса, иммунного ответа, повышают эффективность вакцинаций. Применение пробиотиков приводит к снижению заболеваемости, уменьшению количества фармакологических обработок и связанные с ними материальные издержки. К числу наиболее известных пробиотиков относятся молочно-кислые бактерии, бифидобактерии.

Пребиотиками называются такие компоненты пищи, которые не перевариваются и не усваиваются в верхних отделах желудочно-кишечного тракта, но подвергаются ферментации микрофлорой отдела толстого кишечника человека, стимулируют её рост и жизнедеятельность.

Достоинства пробиотиков:

Доступность: Источниками пробиотиков являются не только специальные фармацевтические препараты и молочные продукты начинающиеся на «био...» и «бифи...», но так же и обычная квашеная капуста.

Подбор подходящего пробиотического препарата и его дозировки, прием его регулярно и по определенной схеме, позволяет достигнуть хорошего результата. Во время приема данного препарата полезные бактерии пробиотика восстанавливают микрофлору кишечника, а так же укрепляют иммунитет и предупреждают возникновение кишечных расстройств. Иными словами, действительно работают.

Достоинства пребиотиков:

Устойчивость: Пребиотики достигают пункта назначения, минуя агрессивную среду желудка без потерь и попадая в кишечник в неизменном виде.

Наличие дополнительных полезных свойств: Пребиотики помогают при похудении и для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. Например доказано также, что растворимые пищевые волокна способствуют выработке инсулина после приема богатой углеводами пищи, регулируют уровень сахара в крови, снижают уровень «плохого» холестерина.

Доступность: Пребиотики встречаются как в «функциональных», так и в обычных продуктах. Фруктоолигосахариды содержатся в репчатом луке, чесноке, кукурузных хлопьях, овсяной крупе. Раффиноза находится в фасоли, инулин – в корнеплодах топинамбура (земляная груша) и корне цикория. Пектин – содержится в апельсинах, яблоках и других фруктах, а также в желе

и мармеладе. Ну а витамины А, В и С имеются практически во всех фруктах и овощах.

Условия хранения: особых условий хранения не требуют. Они устойчивы к воздействию кислорода, молочной и уксусной кислот, перепаду температур и имеют длительный срок хранения, в отличие от пробиотиков.

Приходится не по вкусу для патогенных микроорганизмов. Они питаются в основном белковой пищей, а при тяжелых нарушениях – нашими собственными тканями кишечника.

Недостатки пробиотиков:

Полезные микроорганизмы могут просто не добраться до пункта назначения. На пути к кишечнику они погибают в кислой среде желудка – под действием желудочного сока, а далее, в двенадцатиперстной кишке, под влиянием желчных кислот. Еще по дороге их могут погубить антибиотики и противомикробные препараты.

Недостатки пребиотиков:

Их принимают в качестве профилактики и на ранних стадиях дисбактериоза, а в запущенных случаях пребиотики не эффективны. В подобных ситуациях потребуется пропить курс специальных препаратов.

История возникновения

Первые сведения и предположения о взаимосвязи микробов, заселяющих кишечник, с физическим и духовным здоровьем человека появились в 1907 году в трудах знаменитого русского ученого И.И. Мечникова. Впервые термин «пробиотик» был использован в 1965 году в работах D.M. Lilly и R.M. Stowell, которые были посвящены проблемам коррекции микрофлоры кишечника у животных. Этот термин был предложен в качестве антонима антибиотикам. В 1989 г. R. Fuller предположил, что пробиотики обладают благотворным влиянием на организм человека.

В 1992 г. Havenaar R. и соавторы назвали пробиотиками жизнеспособные культуры микроорганизмов, которые применяются у животных и людей и оказывают полезное действие на их организм, улучшая свойства местной кишечной микрофлоры. С 1995 года к пробиотикам стали относить биотерапевтические бактерии со специфическими терапевтическими свойствами, подавляющие размножение патогенных микроорганизмов на слизистых оболочках органов пищеварения, урогенитального тракта.

В настоящее время в зарубежной литературе большинство авторов ссылается на рекомендации Всемирной Организации Гастроэнтерологов (2008, 2011), согласно которым пробиотиками являются живые микроорганизмы, которые при введении в адекватном количестве, оказывают положительный эффект

на здоровье хозяина. Этот эффект может быть как местным, так и системным.

Можно отметить, что значительными работами двадцатого столетия, касающимися вопроса нарушения микроэкологии кишечника, являются труды известного микробиолога Л.Г.Перетц. В.Коллат в 1954 году использовал термин «пробиотик» для обозначения всех важных для жизнедеятельности микроорганизмов, в отличие от опасных «антибиотиков». Сторонники направления микробиологической терапии наряду с термином «пробиотик» предложили также термины «культуры симбионтов» или «бактериальные препараты», понимая под этим свои вакцины для перорального и парентерального применения, а также созданные позже готовые препараты физиологических бактерий. В 1965 году, Д. Лилли и Р. Стилуэлл опубликовали результаты своих исследований в журнале «Сайенс» и показали, что пробиотики выделяют факторы, способствующие росту прочих микроорганизмов. Собственно, и сам термин «пробиотики» в современной формулировке стал применяться по предложению этих авторов. Под пробиотиками следует понимать живые микроорганизмы, которые, будучи приняты внутрь в адекватном количестве, улучшают процессы пищеварения и нормализуют микробный состав кишечника.

Классификация

1. Пробиотические препараты для медицинского применения по составу делятся на:

монокомпонентные – пробиотики, полученные на основе одного штамма живых микроорганизмов;

поликомпонентные – пробиотики, в состав которых входят несколько штаммов микроорганизмов, принадлежащих к одному или нескольким видам или родам, дополняющие или потенцирующие друг друга по ферментативным свойствам, антагонистической активности, продукции биологически активных веществ, механизму действия или другим свойствам;

сорбированные – пробиотики, полученные на основе одного или нескольких штаммов микроорганизмов, сорбированных на частицах активированного угля, кремния диоксида коллоидного и других сорбентах;

комбинированные – пробиотики, в состав которых помимо одного или нескольких видов микроорганизмов входят активные компоненты иной природы (например, лизоцим, инулин, действующие вещества лекарственных растений, витамины, микроэлементы, гормоны и др.), оказывающие терапевтическое воздействие на организм человека.

2. Пробиотики по таксономическим группам микроорганизмов, входящих в их состав, делятся на:

бифидосодержащие пробиотики – содержат один или несколько видов живых бактерий рода *Bifidobacterium*;

лактосодержащие пробиотики – содержат живые бактерии рода *Lactobacillus*, одного или нескольких видов;

колисодержащие пробиотики – получены на основе одного или нескольких штаммов живых бактерий *Escherichia coli*;

споровые пробиотики – получены на основе одного или нескольких видов живых непатогенных представителей рода *Bacillus*;

пробиотики других таксономических групп – содержат живые апатогенные бактерии, принадлежащие к родам *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Aerococcus*, *Enterococcus*, и дрожжевые грибы – *Saccharomyces cerevisiae* и *boulevardii*.

Механизм положительного действия на организм

Согласно современным представлениям положительное действие пробиотиков на макроорганизм происходит по следующим механизмам:

- подавление патогенной и избыточной условно патогенной флоры;
- стимуляция размножения представителей индигенной флоры в результате продукции ростостимулирующих факторов;
- влияние на метаболические процессы;
- стимуляция иммунной системы макроорганизма;
- противоаллергическое действие;
- антиканцерогенное действие;
- потенцирование лечебных эффектов лекарственных препаратов (антибактериальных, гипополидемических, антигистаминных, регуляторов кишечной моторики и др.);
- профилактика реинфекций.

Полезное действие пробиотиков является результатом некоторого комплекса механизмов воздействия бактерий на организм хозяина, которые различаются в зависимости от штамма и области воздействия. Эти механизмы включают:

- 1) поддержание баланса микрофлоры кишечника за счёт синтеза антимикробных веществ;
- 2) борьбу с патогенными микроорганизмами и токсинами за место прикрепления к стенкам кишечника, а также за питательные вещества;

- 3) стимуляцию слизиобразования, стабилизацию кишечного барьера, улучшение кишечного транспорта, метаболизма;
- 4) иммуномодуляцию за счёт повышения врождённого иммунитета и предотвращения спровоцированных патогенами воспалительных процессов;
- 5) регуляцию иммунного ответа.

Таблица 1. Краткий обзор про- и пребиотических препаратов производства Германии, России, Польши и Великобритании

Название	Производитель	Состав	Достоинства
Хилак Форте	Merck KGaA-фармацевтическая компания, страна Германия	беззародышевый водный субстрат продуктов обмена веществ следующих бактерий: кишечных палочек (Escherichia coli) (Enterococcus faecium) (Lactobacillus acidophilus) (Lactobacillus helveticus) Вспомогательные вещества: молочная кислота 90%, натрий фосфорнокислый, калий фосфорнокислый, фосфорная кислота 85%, лимонной кислоты моногидрат.	хорошая переносимость при минимуме нежелательных реакций, что представляет значительный практический интерес, безопасность Хилак форте позволяет использовать его в неонатологии, у детей раннего возраста, а также беременных и кормящих женщин.

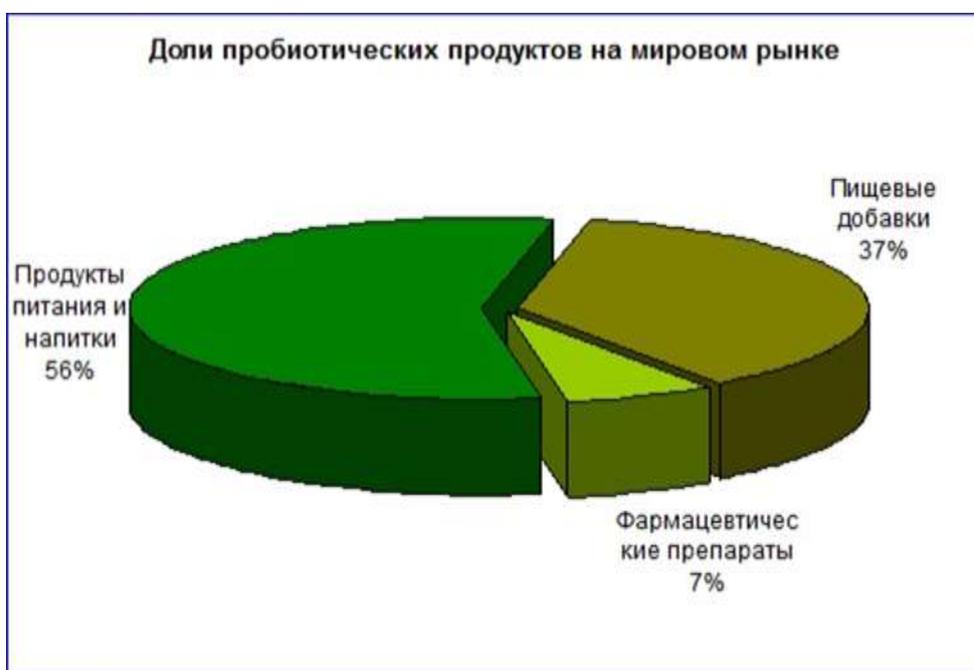
Бифидумбакте рин	Экополис, Росси я	Живые бифидобактерии Bifidobacterium bifidum – не менее 5×10 ⁷ КОЕ Вспомогательные вещества: Лактулоза или Лактоза – не более 17,5%.	Можно применять беременным и младенцам с первых дней жизни. Относительно недорогая стоимость препарата.
Нормобакт Энтеро	Компания "Мастер Фарм польска" ("Master Pharm Polska") (Польша)	мальтодекстрин, фруктоолигосахар иды, лиофилизированна я дрожжевая культура Saccharomyces boulardii, E471 субстанция, предотвращающая слипание (содержит сою).	Благодаря использованию при производстве инновационных капсул DRcaps, ингредиенты защищены от воздействия кислотности желудочного сока и пищеварительны х ферментов. DRcaps позволяют замедлить растворение капсулы после проглатывания и доставить содержимое в кишечник.
Бак-сет Форте	Probiotics International Ltd. (Великобритани я)	Пробиотические культуры: L. casei L. plantarum L. rhamnosus B. bifidum B. breve B. longum L. acidophilus Lactococcus lactis ssp. lactis Streptococcus thermophilus	единственный мульти- пробиотик, содержащий 14 штаммов живых бактерий. Современная щадящая технология производства Бак-Сет Форте позволяет гарантировать

		<i>B. infantis</i> <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. fermentum</i>	заявленное количество бактерий в течение всего срока годности препарата.
--	--	--	---

Технологические аспекты производства пробиотических препаратов разных мировых производителей и примерная технологическая схема

Увеличение рынка пробиотиков связано частично с более широким признанием терапевтических свойств пробиотиков в профилактике заболеваний, и в определенной мере с тем, что научные достижения позволили предложить пробиотики в качестве ингредиента при производстве таких продуктов питания, как колбасные изделия, сыры, хлебобулочные изделия, шоколад.

К основным поставщикам пробиотических продуктов на мировой рынок являются следующие компании: Biogaia AB, Chr Hansen, Degussa, Danisco Food Science, DSM/Gist Brocades, Indtitut Rosell/Lallemand, Lifeway, Medipharm, Nutraceutex, Probi AB, Rhodia/Texel, Laboratoire Symbiotec, Uas Labs, Valio Ltd, VSL Pharmaceuticals, Bio Huma Netics, Bio-K+International Inc., Nebraska Culture, Vri Biomedical.



Производственные штаммы

При производстве пробиотиков для медицинского применения используются производственные штаммы с подтвержденным клиническим эффектом, депонированные в национальной или международной коллекции, которые идентифицированы до вида (штамма) по фенотипическим и генотипическим признакам: по физиолого-биохимическим свойствам; спектру антагонистической активности к тест-штаммам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов;

Пробиотические штаммы микроорганизмов должны быть апатогенны и безопасны, не продуцировать ферменты патогенности (каталаза,

гиалуронидаза, фибринолизин, плазмокоагулаза, гемолизин, летициназа С, нейраминидаза и другие); в их геноме должны отсутствовать "островки патогенности". Кроме того, эти штаммы не должны быть чувствительными к воздействию желудочного сока, желчи и щелочей.

Производство

Производство пробиотиков должно осуществляться в отдельных помещениях, где не проводят работы с патогенными микроорганизмами и антибиотиками и соблюдены требования к защитным зонам, согласно действующим санитарным нормам. Не допускается производство пробиотиков на территории, на которой расположены производственные здания по производству антибиотиков.

Обязательным условием технологического процесса производства пробиотиков является соблюдение принципа поточности, исключающего возможность перекреста промежуточных продуктов и полуфабрикатов, получаемых на разных стадиях производства, и их контаминацию посторонними агентами, в первую очередь посторонней микрофлорой.

При производстве пробиотиков проводят валидацию технологического процесса, технологического оборудования, сырья и методов контроля. Соответствие всех реагентов, материалов и сырья, используемых при производстве, нормативным требованиям должно быть подтверждено в установленном порядке; все материалы должны быть разрешены для использования при производстве ИЛП. Вспомогательные вещества, входящие в состав пробиотиков, должны использоваться в дозах, не вызывающих токсические, аллергические или иные нежелательные реакции у человека. Антибиотики не должны использоваться ни на одной из стадий получения лекарственного средства.

При производстве пробиотиков особое значение имеет постоянное выполнение на всех этапах производства внутрипроизводственного анализа основных показателей качества для оценки их воспроизводимости, анализа качества готовой продукции при выпуске и в течение всего срока хранения.

Требования к производству пробиотиков для медицинского применения

А. Получение производственного штамма

Производственные питательные среды не должны содержать антибиотики и компоненты, вызывающие аллергические или иные нежелательные реакции у человека. Соответствие всех реактивов, реагентов и сырья, используемых при производстве питательных сред, нормативным требованиям должно быть подтверждено в установленном порядке, все материалы должны иметь сертификаты соответствия. Питательные среды должны обладать высокими ростовыми свойствами и быть стерильными. Штаммы, используемые при производстве пробиотиков, должны ежегодно проверяться по всем биологическим свойствам в соответствии с регламентированными требованиями, описанными ниже.

Подлинность. Штамм должен быть идентифицирован до вида с помощью микробиологических методов (например, микроскопического, бактериологического и др.), которые могут быть дополнены методами молекулярной идентификации. Штамм должен обладать однородными морфологическими, тинкториальными, биохимическими и культуральными свойствами. Испытание проводят в соответствии с ОФС "Производственные пробиотические штаммы и штаммы для контроля пробиотиков", если в нормативной документации не указаны другие требования.

Безопасность. Безопасность штамма определяется биологическими методами *in vivo* (например, исследованием безвредности, токсичности, токсигенности, вирулентности и т.п.) в соответствии с ОФС "Безопасность пробиотиков в тестах *in vivo*", которые могут быть дополнены методами молекулярной биологии.

Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов (микробиологическая чистота). Испытание выполняют с использованием набора селективных питательных сред для того, чтобы в выбранных условиях инкубации был обеспечен рост всех вероятных контаминантов.

Штамм не должен содержать посторонней микрофлоры. Определение проводят в соответствии с ОФС "Микробиологическая чистота", если в нормативной документации не указаны другие требования.

Антагонистическая активность. Антагонистическую активность штамма в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов определяют бактериологически, например, методом отсроченного антагонизма на

плотной среде по зонам задержки роста тест-штаммов или методом совместного культивирования (определение проводят в соответствии с ОФС "Специфическая активность пробиотиков для медицинского применения"). Штамм должен проявлять антагонистическую активность по отношению к тест-штаммам патогенных и условнопатогенных микроорганизмов и не должен угнетать рост представителей нормофлоры. Тестштаммы должны быть депонированы в национальной или международной коллекции с указанием источника и даты выделения, и характеристики их биологических свойств.

Кислотообразующая активность. Определение активности кислотообразования препарата проводят титриметрическим методом в соответствии с ОФС "Специфическая активность пробиотиков для медицинского применения". Кислотность выражают в градусах Тернера (°Т).

Хранение, упаковка. Производственный штамм хранят при температуре и прочих условиях, обеспечивающих его стабильность. Производственный штамм, расфасованный в первичную упаковку (ампулы, флаконы), в лиофилизированном виде хранят при температуре, обеспечивающей его стабильность.

Б. Получение посевного материала

Главный посевной материал микроорганизмов получают из производственного штамма, выращенного на адекватной среде в соответствующих условиях методом поверхностного или глубинного культивирования с последующей лиофилизацией.

Главный посевной материал должен соответствовать описанным ниже требованиям.

Подлинность. Подлинность посевного материала определяется микробиологическими методами. Культура должна обладать однородными морфологическими и культуральными свойствами. Испытание проводят в соответствии с ОФС "Подлинность", если в нормативной документации не указаны другие требования.

Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов (микробиологическая чистота). Испытание выполняют с использованием селективных питательных сред для того, чтобы в выбранных условиях инкубации был обеспечен рост всех потенциальных контаминантов.

Культура не должна содержать посторонней микрофлоры. Определение проводят в соответствии с ОФС "Микробиологическая чистота".

Хранение, упаковка. Маточную культуру расфасовывают в первичную упаковку и хранят в условиях, установленных для хранения производственного штамма.

В. Получение производственной биомассы

Производственную биомассу получают путем культивирования посевного материала двумя способами: стационарным (в бутылках) или глубинным (в реакторах) с последующим добавлением стабилизатора - среды высушивания.

Производственная биомасса должна соответствовать нижеперечисленным требованиям.

Подлинность. Подлинность посевного материала определяется микробиологическими методами. Культура должна обладать однородными морфологическими и культуральными свойствами.

Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов (микробиологическая чистота). Испытание выполняют с использованием селективных питательных сред для того, чтобы в выбранных условиях инкубации был обеспечен рост контаминантов. Культура не должна содержать посторонней микрофлоры. Определение проводят в соответствии с ОФС "Микробиологическая чистота".

рН. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС "Ионометрия".

Г. Этап розлива, лиофилизации и укупорки

Производственную биомассу разливают в первичную упаковку или поддоны и лиофилизируют при соответствующих условиях. Первичную упаковку (ампулы, флаконы) укупоривают в атмосфере инертного газа и проверяют на герметичность и потерю в массе при высушивании в соответствии с ОФС "Иммунобиологические лекарственные препараты".

Д. Этап получения лекарственного препарата в различных лекарственных формах

Пробиотики для медицинского применения выпускают в следующих лекарственных формах: лиофилизаты во флаконе, суспензии, таблетки, капсулы, порошки, суппозитории. Показатели качества лекарственного средства оценивают по соответствующей лекарственной форме (лиофилизаты во флаконе, суспензии, таблетки, капсулы, порошки, суппозитории).

Испытания

Показатели качества лекарственного средства лекарственной формы таблетки, суппозитории и порошки оценивают в соответствии с требованиями ОФС "Таблетки", "Суппозитории", "Порошки".

Описание. Приводится описание внешнего вида соответствующей лекарственной формы лекарственного средства.

Подлинность. Подлинность подтверждают микробиологическими методами (микроскопическим и/или бактериологическим). Испытание проводят в соответствии с ОФС "Производственные пробиотические штаммы и штаммы для контроля пробиотиков", если в нормативной документации не приведены другие требования. Время восстановления препарата (для лиофилизатов, порошков). Испытание проводят в соответствии с ОФС "Иммунобиологические лекарственные препараты", либо по методике, описанной в нормативной документации, с указанием времени получения восстановленного препарата. Указывают применяемый растворитель (среда восстановления), его объем и, при необходимости, условия проведения испытаний (температура, режим перемешивания и пр.). Время восстановления раствора (суспензии) для лиофилизатов - не более 5 мин, для порошков - не более 20 мин, если в нормативной документации нет других указаний.

Время распадаемости (для таблеток и капсул). Испытание проводят в соответствии с ОФС

"Распадаемость таблеток и капсул". Время распадаемости указывают в нормативной документации.

Указывают применяемый растворитель (среда распадаемости), его объем и, при необходимости, условия проведения испытаний (температура, режим перемешивания и пр.)

При проведении теста "Распадаемость" следует учитывать, что время распадаемости для таблеток не должно превышать 15 мин, для капсул - 20 мин, если в нормативной документации не указаны другие требования.

Температура и время плавления или время полной деформации (для суппозиториев). Для суппозиториев, изготовленных на липофильной основе, определяют температуру плавления по методу 2 (ОФС "Температура плавления"), которая не должна превышать 37°C, если нет иных указаний в нормативной документации. Если определение температуры плавления затруднительно, то определяют время полной деформации в соответствии с ОФС "Определение времени полной деформации суппозиториев на липофильной основе". Время полной деформации не должно превышать 20 мин, если нет других указаний в нормативной документации.

pH. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС "Ионометрия".

Указывается допустимый интервал значений pH (в случае определения pH после восстановления препарата следует указать растворитель и его объем).

Потеря в массе при высушивании. Определение проводят гравиметрическим методом в соответствии с ОФС "Потеря в массе при высушивании" или другим валидированным методом.

Требования к величине потери в массе при высушивании указывают в нормативной документации.

Если нет других указаний в нормативной документации, показатель потери в массе при высушивании должен составлять для:

- лиофилизатов - не более 3,5%;
- капсул - не более 3,5%;
- таблеток - не более 4,5%;
- порошков - не более 5,0%

Средняя масса и отклонения от средней массы (для таблеток, суппозиториев, содержимого капсул и пакетов). Приводятся требования к средней массе и максимально допустимые отклонения от средней массы в соответствии с ОФС "Однородность массы дозированных лекарственных форм".

Извлекаемый объем (для суспензий). Извлекаемый объем должен соответствовать требованиям, указанным в нормативной документации, и должен быть не менее номинального. Определение проводят в соответствии с ОФС "Извлекаемый объем".

Специфическая безвредность. Определение проводят в соответствии с ОФС "Безопасность пробиотиков в тестах *in vivo*". Указываются требования и критерии специфической безвредности; требования к животным, используемым для контроля, и их количество; дозы, условия разведения и методы введения лекарственного средства; продолжительность наблюдения, учитываемые показатели. Лекарственное средство должно быть безвредным.

В общем примерную технологическую схему этапов производства пробиотических препаратов можно представить следующим образом:



Установление скорости роста бифидо и лактобактерий, содержащихся в препаратах Баксет Форте и Бифидумбактерин, и дрожжевых грибов препарата Нормобакт в бактериологической лаборатории по методикам «Посев пробиотиков на питательную среду»

Для выращивания микроорганизмов, входящих в состав пробиотиков для медицинского применения, используем адекватные для данного вида бактерий и для данной методики питательные среды .





Для препаратов Баксет Форте и Бифидумбактерин взяли полужидкую модифицированную печеночную среду Блаурокка и Лактобакагар. Так как в составе данных пробиотических препаратов содержатся бифидобактерии, использование данной питательной среды является наиболее оптимальным.



Среда Блаурокка - питательная среда предназначенная для культивирования бифидобактерий и выделения их из клинического материала.

Представляет собой однородный, гигроскопичный мелкодисперсный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета.

Состав:

Печеночный бульон, пептон ферментативный, лактоза, цистеина гидрохлорид, натрия хлорид, агар.

Приготовление:

Препарат тщательно размешиваем в 1 л воды дистиллированной, кипятим в течение 1 мин, периодически перемешивая, до полного расплавления агара, фильтруем и разливаем по 9,0 мл в пробирки и стерилизуем автоклавированием при температуре 112°C в течение 30 мин.

Готовая к употреблению питательная среда прозрачная, желтого или желтовато-коричневого цвета.

pH 7,0 ±0,3.

Стерильную среду можно хранить не более 7 суток при температуре 2-8 °С, перед использованием регенерировать, путем нагревания ее в кипящей водяной бане в течение 15-20 мин.

Принцип действия:

Полужидкая среда в сочетании с цистеин гидрохлоридом создают анаэробные условия, а совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста бифидобактерий.

Лактобакагар - это среда для культивирования лактобацилл. Лактобакагар предназначена для выделения и культивирования лактобацилл из клинического материала, пищевых и молочных продуктов. Представляет собой мелкодисперсный порошок желтого цвета, гигроскопичный.

Приготовление: Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, тщательно размешивают в 1л дистиллированной воды, доводят до кипения и кипятят в течение 5 мин, периодически перемешивая, до полного расплавления агара, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают по чашкам и стерилизуют автоклавированием при температуре 120°C в течение 15 мин.

Готовая к употреблению питательная среда прозрачная, желтовато-коричневого цвета.

Среду можно использовать в течение 7 суток при температуре хранения (2-8)°С.

Учет результатов проводят визуально через 24-48 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Методика бакпосева:

1) Перед использованием суспензируем порошковую взвесь пробиотиков в стерильном 0,9 % растворе хлорида натрия



2) Производим посев стерильной петлей Пастера в пробирку с полужидкой средой Блаурокка и на чашку Петри с лактобакагаром

3) Закрываем пробирку и чашку и помещаем в термостат при температуре 37°C в течение 3-х суток.



По окончании эксперимента в полужидкой среде Блаурокка ,куда был произведен посев препарата Бифидумбактерин наблюдаем рост колоний различной степени четкости, расположенные по всему объему столбику среды и с прозрачной зоной в верхней его части.





На чашке Петри с лактобакагаром ,куда был произведен посев препарата Баксет наблюдаем рост выпуклых белых колоний на поверхности питательной среды.



Для препарата Нормобакт мы взяли питательную среду Сабуро, так как в составе препарата имеются дрожжевые грибы Сахаромицеты Буларди, данная среда будет оптимальной для культивирования данного вида микроорганизмов.

Среда Сабуро - питательная среда для культивирования дрожжевых и плесневых грибов, сухая представляет собой мелкодисперсный гомогенный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета.



Состав (в пересчете на 1 л готовой среды):

- Пептон ферментативный сухой - 7,0 г.
- Гидролизат соевой муки ферментативный - 3,0 г.
- Глюкоза кристаллическая гидратная - 40,0 г.
- Экстракт автолизированных дрожжей осветленный - 4,0 г.
- Агар микробиологический (для плотной среды) - 12,0 г.

Приготовление плотной среды

66 г сухой среды развести в 1 л воды очищенной, довести до кипения, кипятить 1-3 мин до полного растворения, охладить, откорректировать рН (5,5-5,7). Снова довести до полного расплавления агара, при необходимости профильтровать через ватно-марлевый фильтр. Стерилизовать при температуре 112°C в течение 20 мин. Среду охладить до температуры 50°C, разлить в стерильные чашки Петри. Оставить чашки открытыми при

комнатной температуре для застывания и подсушивания на 1,5 часа в асептических условиях.

Готовая среда должна быть прозрачной, светло-бежевого цвета.

Готовую среду до использования можно хранить в темном месте не более 10 сут при температуре 2-8°C. Посевы исследуемых образцов инкубировать 23-25 ч при температуре 37°C.

Методика бакпосева:

- 1) Суспензированную взвесь пробиотика выливаем на чашку Петри в количестве 0,5 мл и втираем в питательную среду петлей Пастера.
- 2) Закрываем чашку Петри и помещаем в термостат на трое суток при температуре 37°C.

По окончании эксперимента наблюдаем рост блестящих выпуклых белых колоний на поверхности питательной среды:

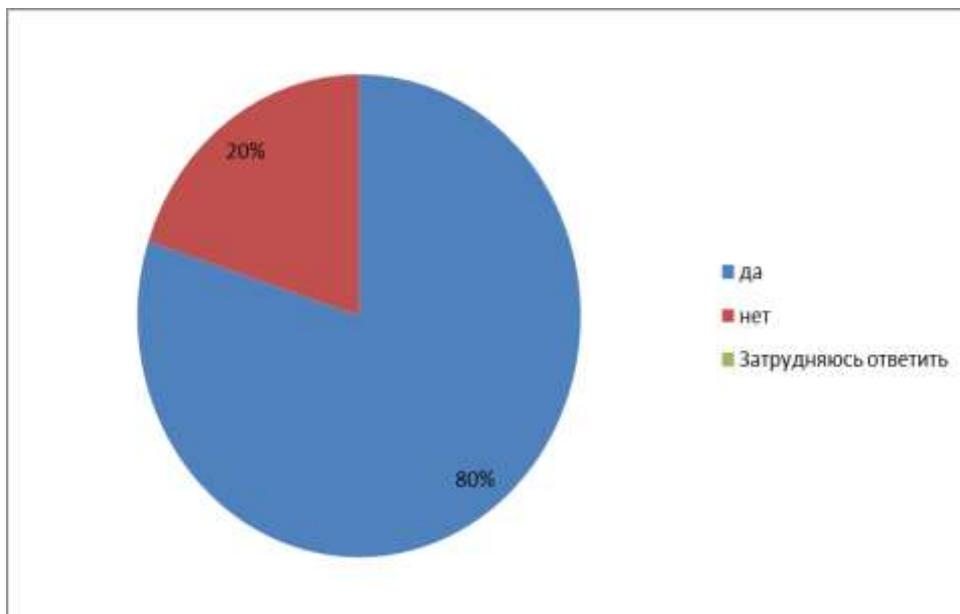


Проведение социологического опроса по выяснению осведомленности и опыта использования пробиотических препаратов. Анализ результатов опроса.

Был проведен социологический опрос с целью выяснения осведомленности и опыта использования пробиотических препаратов населением некоторых регионов Казахстана, а также выявления положительного/отрицательного результата от их использования.

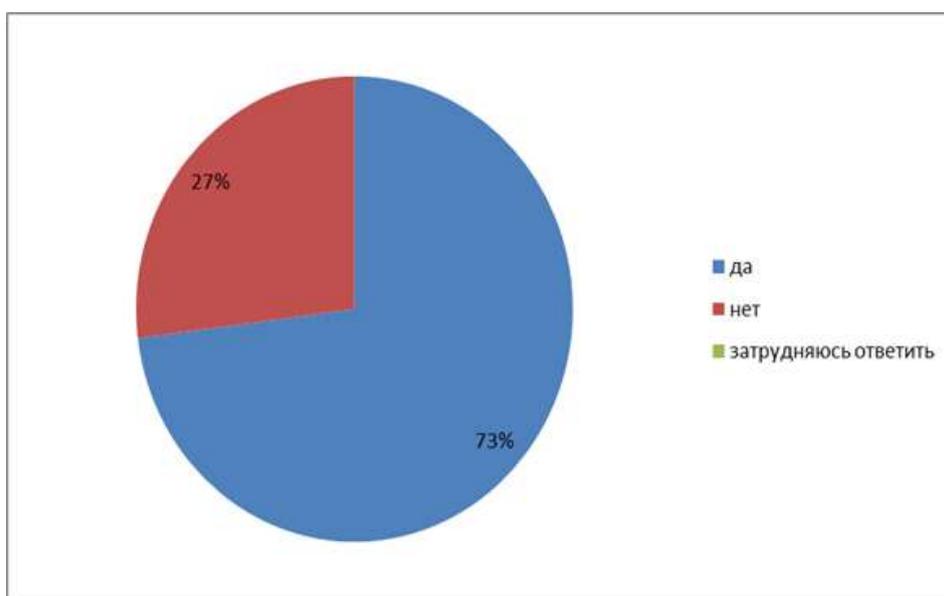
В социологическом опросе приняли участие 40 жителей разных регионов Казахстана (Павлодарской, Карагандинской и Туркестанской областей).

Вопрос: Приходилось ли Вам принимать препараты про- или пребиотиков ?
отображает диаграмма №1:



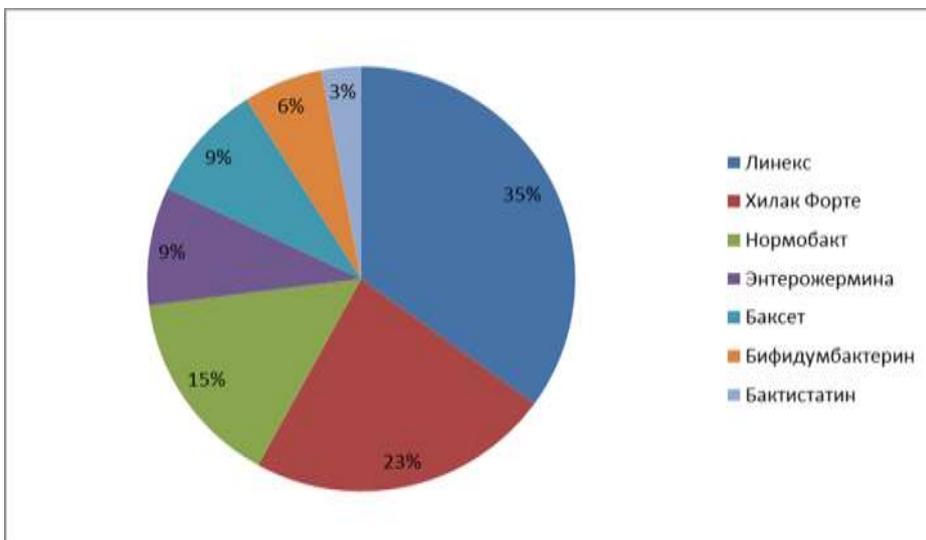
Из диаграммы видно, что пробиотики принимали 80% или 32 человека из числа опрошенных респондентов. В дальнейшем обрабатывались ответы именно этих респондентов.

Диаграмма №2 отражает причину, по которой респонденты принимали пробиотики ранее. Это наличие у респондентов заболеваний желудочно-кишечного тракта.



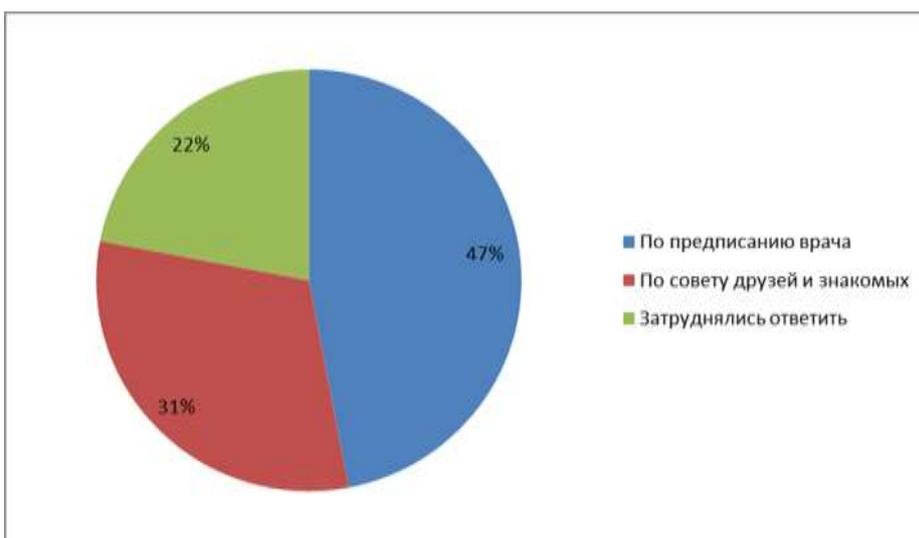
73% респондентов имели ранее проблемы с желудочно-кишечным трактом и соответственно принимали пробиотики .

Диаграмма №3 показывает результаты опроса по выявлению наиболее популярных пробиотических препаратов.

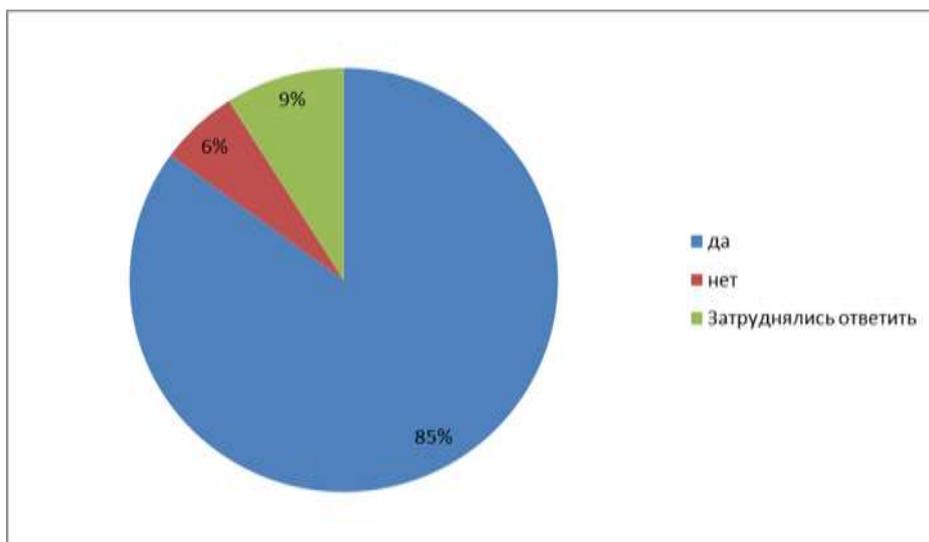


Наибольший процент опрошенных (35%) знают , слышали или когда то принимали препарат Линекс. 23% опрошенных отдали свой голос в пользу пребиотического препарата Хилак Форте. Наименьшим спросом пользуются Бифидумбактерин и Бактистатин (6% и 3% соответственно).

Ответы на вопрос: Если Вы принимали препараты про- и пребиотиков, то по чьему совету? представлены в диаграмме №4:



На наш взгляд хороший результат, положительно характеризующий работу врачей (47%). Наибольший интерес представляли ответы респондентов относительно достижения ожидаемого эффекта от приема пробиотических препаратов (Диаграмма №5).



В большинстве случаев (85%) был достигнут положительный эффект от применения пробиотических препаратов. Таким образом, описание положительного влияния пробиотиков на организм человека соответствует действительности.

Заключение:

1. Рассмотрена классификация пробиотических препаратов, определены их различия, достоинства и недостатки.
2. Проведена сравнительная оценка составов и лекарственных форм пробиотических препаратов разных стран производителей (Германия, Россия, Польша и Великобритания).
3. Обобщены технологические требования производства пробиотических препаратов.
4. Проведен эксперимент по установлению скорости роста бифидо и лактобактерий, содержащихся в препаратах Баксет Форте и Бифидумбактерин, и дрожжевых грибов препарата Нормобакт в бактериологической лаборатории по методикам «Посев пробиотиков на питательную среду». Установлено, что в данных препаратах действительно имеются полезные бактерии, заявленные в составе .
5. Проведен социологический опрос по выяснению осведомленности и опыта использования пробиотических препаратов. Сделан анализ результатов опроса.

