

GENURILE DE MICROORGANISME SEMNIFICATIVE PENTRU MENȚINEREA SĂNĂTĂȚII ORGANISMULUI

Maria TIMOȘCO, Natalia FLOREA, Radu COJOCARU**,
Aliona VELCIU, Victoria BOGDAN*

*Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM,
*USMF „Nicolae Testemițanu”
**Centrul Național de Sănătate Publică*

În rezultatul testării a trei monotulpini și a trei asociații de bifidobacterii și lactobacili s-a evidențiat rolul lor semnificativ în sănătate, manifestat prin intensificarea procesului de multiplicare (respectiv, loturile I-VI cu 106,62 și 49,64; cu 107,57 și 61,70; cu 110,29 și 55,40; cu 124,20 și 61,97; cu 97,32 și 72,20; cu 96,47 și 69,46% față de inițial), precum și prin aderența considerabilă a acestora la mucoasa intestinală (la aceleași loturi, respectiv cu 134,05 și 33,84; cu 138,36 și 79,61; cu 151,29 și 72,69; cu 156,46 și 71,92; cu 167,24 și 142,24; cu 184,05 și 137,30% comparativ cu lotul-martor). Ca impact pozitiv al reprezentanților genurilor *Bifidobacterium* și *Lactobacillus* în sănătate s-a considerat și faptul diminuării vitezei de multiplicare a bacteriilor din genurile facultative (condiționat patogene) tubului digestiv (*Escherichia*, *Proteus* și familiei *Streptococcaceae*).

Cuvinte-cheie: *probiotic, dismicrobism, tract gastrointestinal.*

GENERAL IMPORTANCE OF THE GENUS OF MICROORGANISMS TO MAINTAINING HUMAN HEALTH CONDITIONS

Acceleration of the multiplication process of the bifidobacteria and lactobacilli reveals the significant role for human health. In results of investigation of the 3 strains and its 3 associations multiplications (initially respectively of I-VI groups, at 106,62 and 49,64; at 107,57 and 61,70; at 110,29 and 55,40; at 124,20 and 61,97; at 97,32 and 72,20; at 96,47 and 69,46%), was shown considerable adhesion to the intestinal mucous membrane (in the same groups respectively at 134,05 and 33,84; at 138,36 and 79,61; at 151,29 and 72,69; at 156,46 and 71,92; at 167,24 and 142,24; at 184,05 and 137,30%, comparing with a control group). Bifidobacteria and lactobacilli display the positive impact for human health conditions and diminish the multiplication rate of the facultative bacteria (conditional pathogens) of the digestive tract (*Escherichia*, *Proteus* and the family of *Streptococcaceae*).

Keywords: *probiotic, dismicrobism, gastrointestinal tract.*

Introducere

Actualmente este considerat că starea de dismicrobism și disfuncțiile intestinale diareice au o răspândire largă printre copii și maturi de diversă vârstă, precum și printre animale în perioada timpurie postnatală [1,14,15,19,21].

În Republica Moldova a fost constatat că dereglările funcționale ale tractului gastrointestinal uman, inclusiv dismicrobismul, sunt cauzate, într-o măsură considerabilă, de influența excesivă stresogenă a factorilor mediului ambiant (climaterici, alimentari, microbieni etc.) asupra macroorganismului [6,10,14,15,24-26]. S-a depistat că față de asemenea acțiune exagerat de sensibili au fost reprezentanții bacteriocenozei intestinale din genurile obligative (*Bifidobacterium* și *Lactobacillus*) [14-16,21]. Bacteriile aparținătoare la aceste genuri posedă proprietăți utile pentru organism, îndeplinind un rol determinant în activitatea lui vitală, mai ales în sintetizarea și absorbția substanțelor biologice active [14,15,23], în activizarea enzimelor [22]. În literatura de specialitate se atrage atenția la rolul major al acestor bacterii în sănătate [6,8,9,16,17,20].

Cele relatate au și stat la baza pregătirii preparatelor de categorie probiotică, dar la etapa actuală în medicina contemporană cu scop curativ sunt recomandate spre utilizare, preponderent, remedii medicamentoase pregătite în baza microorganismelor din genul *Bacillus* (*Subtyl*, *Bactisubtyl* ș.a.). Deoarece aceste bacterii sunt caracteristice mediului ambiant și nu tractului gastrointestinal, aceste preparate după conținutul lor se consideră de influență indirectă asupra macroorganismului. Cercetările noastre precedente (anii 1990-2005) au constatat că preparatele de influență directă pot fi funcționale și eficiente numai în cazul dacă în componența lor se conțin monotulpini, politulpini sau polispecii de microorganisme din genurile obligative tubului digestiv, mai ales cele din genurile *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ș.a. [14,15]. La asemenea concluzie a ajuns și H.M. Timmerman cu coautorii [13], ceea ce, probabil, se datorează proprietăților lor utile pentru macroorganism [7,8,15,22].

Deși bacteriocenoza gastrointestinală prezintă peste 50 de specii de microorganisme, cu apartenență la circa 15 genuri, totuși numai câteva din ele sunt cele mai utile pentru macroorganism, fiind în majoritate reprezentante, preponderent, ale genurilor obligatorii pentru tubul digestiv: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, dar și ale altor genuri (*Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ș.a.) [1,6,8,10-12].

Scopul cercetărilor noastre a fost de a evidenția viteza multiplicării și capacitatea adezivă sau de colonizare a diversilor reprezentanți ai unor genuri de microorganisme intestinale.

Material și metode

Cercetările au avut loc în cadrul Laboratorului Microbiologic al Centrului Național de Sănătate Publică.

Realizarea a astfel de lucrări a fost posibilă numai după selectarea în condiții *in vitro* a monotulpinilor de microorganisme cu proprietăți utile pentru macroorganism (în baza activității antagoniste și capacității adezive sporite).

Inițial, din conținutul intestinal uman practic sănătos (copii și maturi de diverse vârste-0-60 ani) au fost izolate 157 de monotulpini de microorganisme vii. În rezultatul lucrărilor de identificare s-a constatat că 47 din ele aparțineau genului *Bifidobacterium*, 78 – *Lactobacillus*, 12 – *Streptococcus*; 6 – *Lactococcus* și 14 – *Enterococcus*, ceea ce a constituit, respectiv: 29,93; 49,68; 7,64; 3,82 și 8,91%. În rezultatul studiului s-a evidențiat că mai de perspectivă s-au dovedit a fi următoarele specii de bacterii: *Bifidobacterium infantis*, *B.bifidum*, *B.breve*, *B. longum*, *B.adolescentis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L.casei*, *L.helveticus*, *L.coryniformis* ș.a. (*Enterococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*).

În continuare, experimentele au fost efectuate în condiții *in vivo* pe animale de laborator (șoareci albi). Asemenea lucrări au fost realizate în colaborare cu Centrul Național de Medicină Preventivă (actualmente Centrul Național de Sănătate Publică) din mun. Chișinău. Experimentele s-au efectuat în 7 loturi, dintre care I-VI au fost experimentale, iar VII – martor. Loturile, au fost divizate astfel: I, II și III au primit câte o tulpină de bifidobacterii (respectiv cu numerele 26, 41, 47), IV – două tulpini de bifidobacterii (14+33); V – două tulpini de lactobacili (72+105) și VI – bifido- în asociere cu lactobacili (tulpinile 26+41+59), iar VII, fiind lot- martor, n-a primit tulpini microbiene.

Rezultate și discuții

În procesul investigațional de la toate animalele experimentale au fost colectate monstre de conținut intestinal (rectal) care au fost supuse studiului (prin diluarea de la 10^{-1} până la 10^{-9} și inocularea pe medii nutritive electivă pentru fiecare gen de microorganisme). Calcularea indicilor cantitativi a inclus câteva etape: numărarea coloniilor de bacterii crescute pe medii de cultură agarizate, înmulțirea la numărul diluției și logaritizarea zecimală a cantității lor. Asemenea lucrări s-au realizat la începutul și la finele experimentelor, iar rezultatele obținute, exprimate în logaritmi zecimali, sunt incluse în Tabelul 1.

Tabelul 1

Indicii cantitativi ai bacteriocenozei intestinale la șoarecii care au primit și care n-au primit monotulpini de bacterii intestinale autohtone experimental selectate

Lotul de animale	Genul de micro-organisme	Cantitatea de cellule microbiene la 1g de conținut intestinal, logaritmi zecimali (log)		Deosebirea față de inițial	
		Timpul efectuării cercetărilor		log	%
		Inițial	Final		
I	1	4,53±0,11	9,38±0,13	4,83	<106,62
	2	5,66±0,13	8,47±0,12	2,81	< 49,64
	3	9,17±0,12	6,38±0,11	-2,79	> 30,42
	4	6,25±0,15	3,17±0,10	-3,08	> 49,22
	5	9,54±0,10	6,38±0,16	-3,16	> 33,12
II	1	4,62±0,12	9,59±0,14	4,97	<107,57
	2	5,64±0,11	8,88±0,13	3,48	< 61,70
	3	9,19±0,14	6,38±0,15	-2,81	> 30,57
	4	6,14±0,13	3,20±0,09	-2,94	> 47,88
	5	9,69±0,15	6,47±0,10	-3,22	> 33,24

III	1	4,47±0,09	9,64±0,11	4,93	<110,29
	2	5,74±0,14	8,92±0,15	3,18	< 55,40
	3	9,53±0,11	6,49±0,13	-3,04	> 31,89
	4	6,11±0,10	3,07±0,08	-3,04	> 49,75
	5	9,53±0,14	6,32±0,12	-3,21	> 33,68
IV	1	4,38±0,15	9,82±0,14	5,44	<124,20
	2	5,47±0,12	8,86±0,13	3,39	< 61,97
	3	9,62±0,13	6,30±0,12	-3,32	> 34,51
	4	6,13±0,14	3,17±0,11	-2,96	> 48,28
	5	9,59±0,13	6,32±0,10	-3,27	> 34,09
V	1	4,49±0,11	8,86±0,13	4,37	< 97,32
	2	5,54±0,12	9,54±0,15	4,00	< 72,20
	3	9,14±0,14	6,20±0,12	-2,94	> 32,16
	4	6,20±0,13	2,07±0,08	-4,13	> 66,61
	5	9,65±0,10	5,41±0,11	-4,24	> 43,93
VI	1	4,54±0,14	8,92±0,15	4,38	< 96,47
	2	5,60±0,15	9,49±0,14	3,89	< 69,46
	3	9,32±0,11	6,30±0,12	-3,02	> 32,40
	4	6,41±0,12	3,17±0,09	-3,24	> 50,54
	5	9,77±0,13	5,65±0,13	-4,12	> 42,16
VII	1	4,49±0,13	4,60±0,11	0,11	< 2,44
	2	5,32±0,14	5,38±0,13	0,06	< 1,12
	3	8,80±0,15	8,92±0,15	0,12	> 1,36
	4	6,04±0,10	6,13±0,12	0,09	> 1,49
	5	9,53±0,16	9,62±0,14	0,09	> 0,94

Notă: Loturile de animale: I-VI – experimentale; VII – martor, sunt divizate în text. Microorganisme din genurile: 1 – *Bifidobacterium*; 2 – *Lactobacillus*; 3 – *Escherichia*; 4 – *Proteus* și 5 – familia *Streptococcaceae*.

Datele Tabelului 1 denotă multiplicarea considerabilă a reprezentanților genurilor obligative (*Bifidobacterium* și *Lactobacillus*) în tubul digestiv al animalelor din loturile experimentale (I-VI), fiind mai mare comparativ cu inițialul, respectiv cu 124,20-96,47% și 72,20-49,64%. Concomitent s-a observat că toate tulpinile și asociațiile experimentate au demonstrat o influență inhibitoare față de reprezentanții microflorei intestinale din genurile facultative (pe exemplul microorganismelor din genurile *Escherichia*, *Proteus* și familia *Streptococcaceae*), confirmată de cantitatea lor diminuată în medie cu 34,51-30,42; 66,61-47,88 și 43,93-33,12%. În același timp, la animalele din lotul-martor, chiar dacă tendința era asemănătoare, totuși indicii cantitativi ai bacteriilor determinate au fost cu mult mai mici (la final deosebirea nivelului numeric constituia numai 2,44-0,94%). Pe acest fondal animalele experimentale s-au dezvoltat normal și toate au supraviețuit. Deci, putem afirma că monotulpinile și asociațiile utilizate au demonstrat impact pozitiv asupra organismului și procesului de multiplicare a reprezentanților microbiocenozei intestinale determinați. Considerăm că rezultatele obținute s-au datorat acțiunii benefice a tuturor monotulpinilor și asociațiilor testate în condiții *in vivo*.

În continuare (după decapitarea animalelor experimentale) s-a atras atenția la valoarea numerică a celulelor microbiene aderente la 1g de omogenat de mucoasă a intestinului subțire, iar datele privind capacitatea adezivă (cantitatea de celule microbiene aderente la 1g de omogenat de mucoasă intestinală, logaritmi zecimali) a tulpinilor și asociațiilor microbiene exprimentate sunt incluse în Tabelul 2.

Analizând datele Tabelului 2 s-a observat o tendință asemănătoare, adică de sporire a cantității bacteriilor din genurile obligative (*Bifidobacterium* cu 184,05-134,05% și *Lactobacillus* cu 33,84-142,24%) și de diminuare a numărului celor facultative (genurile *Escherichia* cu 51,17-42,26%, *Proteus* cu 100,00-65,95 și familia *Streptococcaceae* cu 56,81-48,77%). Aceasta a confirmat faptul că monotulpinile și asociațiile de bacterii supuse testării au contribuit la intensificarea procesului de aderare la mucoasa intestinală, ceea ce a fost demonstrat prin deosebirea comparativă a acestuia la animalele loturilor experimentale (I-VI) față de lotul-martor. Conform valorii numerice a bifido- și lactobacililor, cea mai mare diferență a fost obținută în loturile

V și VI (respectiv mai mare cu 167,24; 184,05 și 142,24; 137,30%). Aceasta argumentează raționalitatea propunerii monotulpinilor și asociațiilor experimentate în asemenea loturi pentru utilizarea lor la producerea remediilor medicamentoase cu destinație sanogenă. Deci, și conform capacităților adezive pot fi recomandate compoziții microbiene în baza bifido- și lactobacililor, preponderent a tulpinilor 14 cu 33 și 26 cu 41 și cu 59 ale bacteriilor nominalizate.

Tabelul 2

Indicii cantitativi ai celulelor microbiene aderate la mucoasa intestinală a șoarecilor care au primit și care n-au primit monotulpini și asociații microbiene autohtone

Lotul de animale	Micro-organisme din genurile	Cantitatea de celule microbiene aderate la 1g de omogenat de mucoasă intestinală, logaritmi zecimali (log)	Deosebirea față de martor	
			log	%
I	1	5,43±0,17	3,11	<134,05
	2	4,32±0,15	1,72	< 33,84
	3	3,34±0,13	-3,07	> 47,89
	4	1,43±0,16	-2,77	> 65,95
	5	3,65±0,14	-3,69	> 50,27
II	1	5,53±0,11	3,21	<138,36
	2	4,67±0,13	2,07	< 79,61
	3	3,64±0,16	-2,77	> 43,21
	4	1,23±0,12	-2,97	> 70,71
	5	3,76±0,15	-3,58	> 48,77
III	1	5,83±0,14	3,51	<151,29
	2	4,49±0,12	1,89	< 72,69
	3	3,38±0,11	-3,03	> 42,26
	4	1,30±0,13	-2,90	> 69,04
	5	3,70±0,10	-3,64	> 49,59
IV	1	5,95±0,13	3,63	<156,46
	2	4,47±0,14	1,87	< 71,92
	3	3,53±0,12	-2,88	> 44,92
	4	0	-4,20	>100,00
	5	3,49±0,11	-3,85	> 52,45
V	1	6,20±0,12	3,88	<167,24
	2	5,90±0,11	3,30	<142,24
	3	3,25±0,14	-3,16	> 49,29
	4	1,04±0,09	-3,16	> 75,23
	5	3,30±0,13	-4,04	> 55,04
VI	1	6,59±0,10	4,27	<184,05
	2	6,17±0,12	3,57	<137,30
	3	3,13±0,15	-3,28	> 51,17
	4	0	-4,12	>100,00
	5	3,17±0,13	-4,17	> 56,81
VII	1	2,32±0,16		
	2	2,60±0,17		
	3	6,41±0,14		
	4	4,20±0,15		
	5	7,34±0,18		

Notă: Loturile de animale și genurile din care fac parte microorganismele sunt identice celor din Tabelul 1.

Concluzii

1. Lucrările realizate au contribuit la evidențierea vitezei sporite de multiplicare a microorganismelor din genurile obligative și de diminuare a celor din genurile facultative.

2. S-a depistat capacitatea înaltă de colonizare (sau de aderare) a bifido- și lactobacililor la mucoasa intestinală.

3. Concomitent, la monotulpinile și asociațiile testate s-au evidențiat proprietăți de combatere (antagoniste) față de reprezentanții facultativi ai microbiocenozei intestinale reflectate prin reducerea capacității lor adezive (în medie cu 42,26-100,00%). Utilitatea celor testate a fost confirmată și prin impactul pozitiv asupra microbiocenozei intestinale generale, iar aceasta a contribuit la menținerea sănătății organismului la nivel optim.

4. S-a dovedit că microorganismele genurilor *Bifodobacterium* și *Lactobacillus* au o semnificație sporită în sănătate, pot fi considerate de acțiune sanogenă și recomandate spre includere în componența remediilor medicamentoase de categorie probiotică (sau sanobiotică, pentru că îndeplinesc un rol semnificativ în sănătate).

Bibliografie:

- AHRNE, S., LONNERMARK, E., WOLD, A.E. et al. Lactobacilli in the intestinal microbiota of Swedish infants. In: *Microbes Infect.*, 2005 Aug-Sep; 7(11-12):1256-1262.
- ANNUK, H., SHCHEPETOVA, J., KULLISAAR T. et al. *Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates*, 2003, 94(3):403-4123.
- BENCHIMOL, E.I., MACK, D.R. Probiotics in relapsing and chronic diarrhea. In: *J. Pediatr. Hematol.- Oncol.*, 2004, 26(8):515-517.
- DUCLE, H., HONG, H.A., BARBOSA, T.M. et al. Characterization of Bacillus probiotics available for human use. În: *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, 70(4):2161-2171.
- FOX, C.H., DANG G. Probiotics in the prevention and treatment of diarrhea. In: *J. Altern. Complement. Med.*, 2004, 10(4):601- 603.
- GILL, H.S., GUARNER, F. Probiotics and human health: a clinical perspective. In: *Postgrad. Med. J.*, 2004, 80(947):516-526.
- HAMMERMAN, C., KAPLAN, M. Probiotics and neonatal intestinal infection. In: *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 2006, 19(3):277-282.
- PARVEZ, S., MALIK, K.A., AH KANG, S., KIM H.Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. În: *J. Appl. Microbiol.*, 2006., 100(6):1171-1185.
- RIED, K. Gastrointestinal health. The role of pro- and pre-biotics in standard foods. In: *Aust. Farm. Physician.*, 2004., 33(4):253-255.
- SALVINI, F., GRANIERI, L., GEMMELLARO, L., GIOVANNINI, M. Probiotics, prebiotics and child health: where are we going? In: *J.Int. Med. Res.*, 2004, 32 (2):97-108.
- SAVINO, F., CRESI, F., PAUTASSO, S. et al. Intestinal microflora in breastfed colicky and non-colicky infants. In: *Acta Paediatr.*, 2004, 93(6):825-829.
- SULIVAN, A., NORD, C.E. Probiotics and gastrointestinal diseases. In: *J. Intern. Med.*, 2005, 257(1):78-92.
- TIMMERMAN, H.M., KONING, C.J. et al. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics – a comparison of functionality and efficacy. In: *Int. J. Food Microbiol.*, 2004.
- TIMOȘCO, M. *Interacțiunea macroorganismului cu microorganismele tubului digestiv sub influența factorilor stresogeni și căile de menținere dirijată a florei microbiene obligative*: Autoref. tezei de dr.hab. în biologie. Chișinău, 2003, 53 p.
- TIMOȘCO, M. *Stresul și flora microbială intestinală*. Chișinău, 2005. 172 p.
- TIMOȘCO, M., VELCIU, A., BOGDAN, V. Nivelul cantitativ al unor genuri de microorganisme obligative tubului digestiv ca factor determinant al stării funcționale intestinale. În: *Biotehnologia microbiologică – domeniul științelor contemporane*. Materialele Conferinței internaționale, 6-8 iulie 2011.CEI, IMB AȘM. Chișinău, 2011, p.111.
- TIMOȘCO, M., VELCIU, A., BOGDAN, V. Starea sănătății tubului digestiv în funcție de apariția simptomelor de disfuncții intestinale. În: *Fiziologia și sănătatea*. Materialele Congresului VII al fiziologilor din RM. Chișinău, 2012, p.384-391.
- UCHIDA, M., MOGAMI, O. Milk whey culture with Propionibacterium freudenreichii ET-3 is effective on the colitis induced by 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid in rats. In: *J. Pharmacol. Sci.*, 2005, 99(4):329-334.
- VELCIU, A., TIMOȘCO, M., SAINSUS, N. Constituirea bacteriocenozei intestinale la copii în condiții de maternitate. În: *Analele Științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „N.Testemițanu”*. Chișinău, 2004, vol.V, p.508-512.

20. VELCIU, A., TIMOȘCO, M., POPAN, L. Explorarea modalităților de evidențiere a stării sănătății tubului digestiv. În: *Analele Științifice ale USM. Seria „Științe medico-biologice”*. 2006, p.80-84.
21. VELCIU, A., TIMOȘCO, M., CIOCHINĂ, V. ș.a. *Diferențierea dismicrobismului și disfuncțiilor intestinale diareice. Recomandare metodică*. Chișinău: Tipografia AȘM. 2011. 40 p. ISBN 978-9975-62-298-1
22. YANG, S.C., CHEN, J.Y., et al. Effect of synbiotics on intestinal microflora and digestive enzyme activities in rats. In: *World J. Gastroenterol*, 2005, 11(47):7413-7417.
23. ТКАЧЕНКО, Е.И., УСПЕНСКИЙ, Ю.П. *Питание, микробиоценоз и интеллект человека*. Москва: СпецЛит., 2006. 590 с. ISBN 5-299-00319-6
24. ФУРДУЙ, Ф.И. *Стресс и здоровье*. Кишинев, 1990. 239 с.
25. ФУРДУЙ, Ф.И., ВУДУ, Г.А., ВУДУ, Л.Ф. и др. Причины и факторы биологической деградации человека и пути его выживания. В: Сб. *Стресс, адаптация, функциональные нарушения и саноскреатология*. Кишинев, 1999, с.22-35.
26. ФУРДУЙ, Ф.И., ЕРЕНКОВА, Н.В., ВУДУ, Л.Ф. *Стресс и здоровье у детей и подростков*. Кишинев, 1994. 278 с.

Notă: Cercetările au fost finalizate cu suportul Proiectului 09.816.09.07A „Elaborarea și testarea noilor remedii medicamentoase pentru menținerea coordonată a bacteriocenozei intestinale la nivel sanogen” din cadrul *Programului de Stat* „Elaborarea și implementarea noilor preparate farmaceutice în baza materiei prime locale”.

Prezentat la 11.05.2015