

Działanie preparatów pochodzenia roślinnego na drobnoustroje probiotyczne

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu

Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. Grzegorz Szychalski

THE EFFECT OF HERBAL PREPARATIONS ON PROBIOTIC MICROORGANISMS

SUMMARY

The aim of studies was the research of herbal preparations with antagonistic activity on probiotic microorganisms occurring in human digestive tract. In studies were used 35 herbal preparations containing antimicrobial substances with potential of growth inhibition or total destroy of 6 standard strains of probiotic microorganisms: *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Lactobacillus rhamnosus* Hansen 1968, *Bifidobacterium bifidum* ATCC 35914, *Streptococcus thermophilus* ATCC 14485 i *Sacharomyces boulardii* SB48 ATCC-MYA-796.

The investigated herbal preparations were suspended in fluid base Reinforced Clostridial Medium in the presence of probiotic microorganisms in amount of 10^6 cells in 1 ml. After 60 min incubation in temp. 37°C in anaerobe condition was estimated the amount of surviving probiotic microorganisms on plates with solid bases (MRS, BHI, BSM).

From microbiological studies results that the investigated plant preparations in aspect of their activity on *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 could be divided in 3 groups. To the first biggest group belong 20 preparations neutral against probiotic bacilli. The second group was the group of 5 preparations acting as typical prebiotics improving the multiplication of in studies used probiotic bacilli. The third group included 10 preparations inhibiting the development of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. The investigation of the last group of preparations including the studies on their activity on the other 5 probiotic microorganisms showed that only 3 preparations; *Tinctura Salviae*, *Propolis Forte 10%* and *Pectosol* inhibit the development of all investigated probiotic microorganisms. Instead 7 other preparations from this group influenced the selected probiotic strains on different way. In their presence some probiotic microorganisms showed unchanged vitality, others improved their development and the growth of another was inhibited.

The conducted studies show, that some preparations of plant origin could inhibit total or partial the growth of probiotic microorganisms in human digestive tract and for this reason should not be used in therapy with probiotic preparations.

KEY WORDS: HERBAL PREPARATIONS – INTERACTION – PROBIOTIC MICROORGANISMS

W ostatnich latach obserwuje się wyraźne zainteresowanie środowisk medycznych preparatami probiotycznymi, tj. zawierającymi komórki bakterii i grzybów saprofitycznych zdolnych, po podaniu ich w odpowiedniej liczbie, do kolonizacji błony śluzowej przewodu pokarmowego człowieka. Fakt ten jest,

m.in. odpowiedzią na nadużywanie w leczeniu antybiotyków, zwłaszcza o szerokim spektrum działania, co sprzyja powstawaniu szczepów drobnoustrojów opornych na ich działanie.

Określenie probiotyk pochodzi od greckich słów *pro-biosis* – dla życia. Pod pojęciem tym rozumiemy żywe, wyselekcjonowane szczepy drobnoustrojów, które po przyjęciu drogą pokarmową pozytywnie oddziałują na zdrowie człowieka i zwierząt. Dotyczy to zarówno zapobiegania zaburzeniom mikroflory przewodu pokarmowego, jak i odbudowy właściwego jej składu w różnych stanach patologicznych, a zwłaszcza w przebiegu chorób o podłożu zapalnym. Liczne badania dowodzą, że dostarczane z zewnątrz drobnoustroje probiotyczne, zarówno w postaci wzbogaconego nimi pożywienia, jak i gotowych preparatów handlowych, poprzez kolonizację przewodu pokarmowego mogą stanowić konkurencję dla patogennych szczepów drobnoustrojów zdolnych do wywołania zakażenia.

Do powstania dysbiozy, czyli zaburzenia równowagi mikroflory jelitowej, dochodzi przede wszystkim w wyniku takich czynników, jak niewłaściwa dieta, intensywne antybiotykoterapia, radioterapia, zakażenia przewodu pokarmowego. W tej sytuacji zapotrzebowanie organizmu na drobnoustroje probiotyczne gwałtownie rośnie. Ich niedobór sprzyja bowiem namnażaniu się w przewodzie pokarmowym chorobotwórczych szczepów bakterii i grzybów będących przyczyną, m.in. nadmiernej fermentacji, wzdęć oraz uporczywych biegunek lub zaparć. Stan przewlekłej dysbakteriozy organizmu może doprowadzić do poważnych zakażeń, zarówno endogennych, jak i egzogennych. Wśród drobnoustrojów wywołujących zakażenia typu endogennego wymienia się najczęściej pałeczki (*Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Bacteroides fragilis*), ziarniaki (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., ziarniaki beztlenowe), a także grzyby drożdżoidalne z rodzaju *Candida*. Za poważne zatrucia pokarmowe (tzw. egzogenne) odpowiedzialne są z kolei drobnoustroje pochodzące ze środowiska zewnętrznego, takie jak *Salmonella* spp., *Shigella* spp.,

Escherichia coli enteropatogenne, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*. W sytuacji zniszczenia saprofitycznej flory jelitowej może dojść również do nadmiernego rozwoju Gram-dodatnich laseczek z gatunku *Clostridium difficile* (toksyny A i B), które mogą wywołać ciężką chorobę, jaką jest rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego. Dlatego też suplementacja diety preparatami zawierającymi drobnoustroje probiotyczne pozwala na wyrównanie zakłóconej równowagi w świetle jelita poprzez ograniczenie wzrostu bakterii potencjalnie patogennych na korzyść bakterii saprofitycznych.

Preparaty produkowane przez różne firmy zawierają zazwyczaj jeden lub kilka odpowiednio dobranych drobnoustrojów pochodzących z organizmu człowieka. I tak spośród bakterii najczęściej wykorzystuje się szczepy pałeczek z rodzaju *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*) i z rodzaju *Bifidobacterium* (*B. bifidum*). Ponadto w niektórych preparatach pochodzenia krajowego stosuje się takie drobnoustroje probiotyczne, jak *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *Streptococcus thermophilus* i *Saccharomyces* (*S. boulardii*, *S. cerevisiae*) (1-3).

W ostatnich latach w przebiegu chorób o podłożu zapalnym, a także w wielu innych dolegliwościach organizmu, obok preparatów syntetycznych, a także

w celu uzupełnienia leczenia podstawowego, często stosowane są preparaty zawierające surowce roślinne. Liczne badania prowadzone w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu, poparte danymi z piśmiennictwa, wskazują bowiem na naturalne właściwości przeciwdrobnoustrojowe wielu związków aktywnych biologicznie wchodzących w skład surowców zielarskich i otrzymanych z nich preparatów. Postanowiono więc zbadać, czy przyjmowanie ich łącznie z preparatami probiotycznymi, których stosowanie jest również celowe i uzasadnione, nie budzi żadnych przeciwwskazań, względnie interakcji.

Cel pracy

Celem niniejszej pracy było poszukiwanie preparatów leczniczych pochodzenia roślinnego o działaniu antagonistycznym wobec drobnoustrojów probiotycznych występujących w przewodzie pokarmowym człowieka.

Materiał i metody

Preparaty użyte w badaniach

Badania obejmowały 35 handlowych preparatów roślinnych i suplementów diety zawierających substancje przeciwdrobnoustrojowe zdolne do potencjalnego

Tabela 1. Badane preparaty i ich główne składniki.

Lp.	Nazwa preparatu	Postać preparatu	Główne składniki biologicznie aktywne
1.	Solaren	płyn	wyciąg z kłącza kurkumy
2.	Nefrol	płyn	wyciągi z korzenia marzanny barwierskiej, owocu aminku egipskiego, ziela nawłoci, mniszka, pietruszki, fasoli i jeżówki
3.	Fitolizyna	pasta	wyciągi z kłącza perzu, łusek czosnku, liści brzozy, nasion kozieradki, korzeni pietruszki i lubczyka, ziela nawłoci, skrzypu i rdestu ptasiego
4.	Ginjal	kapsułki	wyciągi z konika morskiego (<i>Hippocampus</i> sp.), korzenia żeń-szenia oraz <i>Sonchi</i> , <i>Orthosiphoni</i> i <i>Strobilanthi folium</i>
5.	Terpichol	kapsułki	mentol, menton, α -pinen, borneol, cyneol, kamfen
6.	Propolis Plus	kapsułki	wyciąg z propolisu, pyłek kwiatowy
7.	Persen Forte	kapsułki	wyciągi z korzenia kozłka, szyszek chmielu, ziela melisy
8.	Urinal	kapsułki	wyciąg z owoców żurawiny błotnej
9.	Septolete	drażetki	chlerek benzalkoniowy, mentol, tymol
10.	Olbas Pastilles	pastylki	olejki eteryczne: eukaliptusowy, goździkowy, kajeputowy, jałowcowy, miętowy, brzozowy, mentol
11.	Alliofil	drażetki	czosnek suszony, liść pokrzywy sproszkowany
12.	Radirex	tabletki	korzeń rzewienia sproszkowany
13.	Venescin	drażetki	eskulina, rutyna, wyciąg z kasztanowca

Lp.	Nazwa preparatu	Postać preparatu	Główne składniki biologicznie aktywne
14.	Xenna	tabletki	wyciąg z listków senesu
15.	Boldaloin	tabletki	alkaloidy z liści boldo, wyciąg z aloesu
16.	Urosept	drażetki	wyciągi z korzenia pietruszki, naowocni fasoli, liści brzozy, borówki brusznicy i koszyczków rumianku
17.	Alax	drażetki	alona, wyciąg z kory kruszyny
18.	Nursea Trawienie	tabletki	wyciągi z kłącza ostryżu długiego i ziela karczocha
19.	Raphacholin C	drażetki	wyciągi z korzenia czarnej rzodkwi i ziela karczocha, kwas dehydrocholowy, olejek z mięty pieprzowej
20.	Sir. Thymi comp.	syrop	wyciąg z tymianku, tymol
21.	Amol	płyn	olejki eteryczne (cytronelowy, goździkowy, cynamonowy, cytrynowy, z mięty pieprzowej, lawendowy, mentol)
22.	Azulan	płyn	wyciąg z koszyczków rumianku
23.	Tinct. Salviae	płyn	wyciąg z liści szalwi
24.	Pollen	kapsułki	pyłek kwiatowy sproszkowany
25.	Propolis Forte 10%	krople	etanolowy ekstrakt z propolisu
26.	Apigardin Forte	pastylki	wyciąg z propolisu, macerat z prawoślazu
27.	Propolki z aloesem, imbirem i olejkiem z trawy cytrynowej	pastylki	wyciąg z propolisu, olejek z trawy cytrynowej, wyciągi z aloesu i imbiru, mentol
28.	Pectosol	krople	wyciągi z korzeni omanu wielkiego i mydlnicy, porostu islandzkiego, ziela hyzopu, macierzanki
29.	Borówka kaps.	kapsułki	owoc borówki czernicy sproszkowany
30.	Wierzbownica drobnokwiatowa	tabletki	ziele wierzbownicy, wyciąg z ziela wierzbownicy
31.	Oliwka kaps.	kapsułki	wyciąg z liści oliwki
32.	Liść oliwny kaps.	kapsułki	wyciąg z liści oliwki europejskiej
33.	Uroval manosa	kapsułki	wyciąg z żurawiny wielkoowocowej
34.	Tymianek z podbiałem	pastylki	wyciągi z ziela tymianku i liści podbiała
35.	Akron Sept	tabletki	olej z owoców rokitnika, wyciągi z prawoślazu i aloesu, bioflawonoidy cytrusowe

Tabela 2. Charakterystyka szczepów drobnoustrojów użytych w badaniach.

Lp.	Rodzaj i gatunek szczepu	Ziarniaki Gram-dodatnie	Płeczeki Gram-ujemne	Grzyby drożdżoidalne
1.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356		+	
2.	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393		+	
3.	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> Hansen 1968		+	
4.	<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 35914		+	
5.	<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 14485	+		
6.	<i>Saccharomyces boulardii</i> SB48-MYA-796			+

zahamowania wzrostu lub całkowitego zniszczenia użytych drobnoustrojów probiotycznych, tj. Solaren, Nefrol, Fitolizyna, Ginjal, Terpichol, Propolis Plus, Persen Forte, Urinal, Septolete, Olbas pastilles, Alliofil, Radirex, Venescin, Xenna, Boldaloin, Urosept, Alax, Nursea Trawienie, Raphacholin C, Sir. Thymi comp., Amol, Azulan, Tinct. Salviae, Pollen tabl., Propolis Forte 10%, Apigardin Forte, Propolki z aloesem, imbirem i olejkim z trawy cytrynowej, Pectosol, Borówka kaps., Wierzbownica drobnokwiatowa tabl., Oliwka kaps., Liść oliwny kaps., Uroval manosa, Tymianek z podbiałem, Akron Sept. W podjętych badaniach uwzględniono różne postaci preparatów do użytku wewnętrznego (płyny, krople, syropy, pasty, tabletki, drażetki, pastylki, kapsułki). Preparaty te zawierały składniki biologicznie aktywne, należące do różnych grup chemicznych. Dane dotyczące postaci wymienionych preparatów i ich głównych składników o potencjalnym działaniu przeciwdrobnoustrojowym zamieszczono w tabeli 1.

Szczepy użyte w badaniach

Do badań wytypowano 6 wzorcowych szczepów drobnoustrojów probiotycznych pochodzących z kolekcji międzynarodowej ATCC, tj. *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Lactobacillus casei* ATCC 393, *Lactobacillus rhamnosus* Hansen 1968, *Bifidobacterium bifidum* ATCC 35914, *Streptococcus thermophilus* ATCC 14485 i *Saccharomyces boulardii* SB48 ATCC-MYA-796. Hodowle płynne wszystkich szczepów oraz posiewy kontrolne na płytkach z odpowiednimi podłożami stałymi przygotowywano w warunkach beztlenowych. Charakterystykę szczepów drobnoustrojów użytych w badaniach zamieszczono w tabeli 2.

Sposób przeprowadzenia badań mikrobiologicznych

Badane preparaty odważano aseptycznie w ilości 2 g, dodawano do 20 ml podłoża płynnego RCM (Reinforced Clostridial Medium), a następnie wprowadzano jedną z hodowli 6 wzorcowych szczepów drobnoustrojów wymienionych powyżej w ilości 10^5 - 10^6 komórek w 1 ml. Hodowle te przygotowywano uprzednio przez dodanie materiału ze skosu do 2 ml odpowiedniego podłoża płynnego. Po wymieszaniu pobierano próbkę mieszaniny do oceny ilościowej (kontrola) i próbkę pozostawiano na 60 min w temperaturze pokojowej. Po tym czasie ponownie pobierano mieszaninę leku i drobnoustroju probiotycznego do oceny ilościowej. Badanie to przeprowadzano z użyciem stałego podłoża MRS (*Lactobacillus* Broth-Merch), BHB (Brain Heart Broth-Merch) oraz BSM (*Bifidus* Selective Medium-Fluha). Inkubację prób prowadzono w warunkach beztlenowych w urzą-

Tabela 3. Działanie preparatów pochodzenia roślinnego na pałeczki *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Lp.	Badany preparat	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356
1.	Solaren	0
2.	Nefrol	0
3.	Fitolizyna	0
4.	Ginjal	+
5.	Terpichol	-
6.	Propolis Plus	-
7.	Persen Forte	0
8.	Urinal	0
9.	Septolete	+
10.	Olbas Pastilles	+
11.	Alliofil	-
12.	Radirex	0
13.	Venescin	0
14.	Xenna	0
15.	Boldaloin	0
16.	Urosept	-
17.	Alax	-
18.	Nursea Trawienie	-
19.	Raphacholin C	0
20.	Sir. Thymi comp.	0
21.	Amol	0
22.	Azulan	0
23.	Tinct. Salviae	-
24.	Pollen kaps.	+
25.	Propolis Forte 10%	-
26.	Apigardin Forte	+
27.	Propolki z aloesem, imbirem i olejkim z trawy cytrynowej	0
28.	Pectosol	-
29.	Borówka kaps.	0
30.	Wierzbownica drobnokwiatowa	0
31.	Oliwka kaps.	0
32.	Liść oliwny kaps.	0
33.	Uroval manosa	-
34.	Tymianek z podbiałem	0
35.	Akron Sept	0

Symbole: 0, + i - oznaczają działanie obojętne, wzmagające namnażanie i hamujące namnażanie szczepu *L. acidophilus* ATCC 4356

Tabela 4. Preparaty pochodzenia roślinnego o różnym sposobie działania na wzrost badanych drobnoustrojów probiotycznych.

Lp.	Badany preparat	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> Hansen 1968	<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 35914	<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 14485	<i>Saccharomyces boulardii</i> SB48-MYA-796
1.	Terpichol	0	0	–	+	0
2.	Propolis Plus	0	0	+	0	+
3.	Alliofil	0	+	+	–	–
4.	Urosept	0	0	0	0	0
5.	Alax	+	+	0	+	+
6.	Nursea Trawienie	+	0	–	+	+
7.	Uroval manosa	0	0	–	+	0

Tabela 5. Preparaty pochodzenia roślinnego hamujące wzrost badanych drobnoustrojów probiotycznych.

Lp.	Badany preparat	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> Hansen 1968	<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 35914	<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 14485	<i>Saccharomyces boulardii</i> SB48-MYA-796
1.	Tinct. Salviae	–	–	–	–	–
2.	Propolis Forte 10%	–	–	–	–	–
3.	Pectosol	–	–	–	0	–

dzeniu do hodowli beztlenowej (Anaerobic Jar) w obecności pakietu wytwarzającego warunki beztlenowe (AnaeroGen) i wskaźnika warunków beztlenowych (Anaerobic Indicator) w temperaturze 37°C, przez okres 3-5 dni. Po tym czasie obliczano liczbę kolonii odpowiednich bakterii probiotycznych wyrosłych na płytkach, posianych po czasie 0 i 60 min. Na tej podstawie określano wpływ badanego preparatu na wzrost wzorcowych szczepów bakterii lub grzybów probiotycznych (stymulacja wzrostu, brak działania, zahamowanie wzrostu).

Wyniki badań

Efekty działania 35 preparatów i suplementów diety pochodzenia roślinnego na pałeczki *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 przedstawiono w tabeli 3.

Z przeprowadzonych badań mikrobiologicznych wynika, że wybrane preparaty pochodzenia roślinnego pod względem ich działania na pałeczki *L. acidophilus* ATCC 4356 można podzielić na 3 grupy. Pierwsza, największa z nich, obejmuje preparaty, które zachowują się obojętnie wobec bakterii probiotycznych. Do tej grupy zaliczono takie preparaty, jak Solaren, Nefrol, Fitolizyna, Persen Forte, Urinal, Radirex, Venescin, Xenna, Boldaloin, Raphacholin C, Sirupus Thymi

comp., Amol, Azulan, Propolki z aloesem, imbirem i olejkiem z trawy cytrynowej, Borówka kaps., Wierzbownica drobnokwiatowa, Oliwka kaps., Liść oliwki kaps., Tymianek z podbiałem i Akron Sept (tab. 3). W drugiej grupie znalazły się preparaty, które zachowują się jak typowe prebiotyki, to znaczy wzmagają namnażanie się użytych w badaniach bakterii probiotycznych. Należały do nich takie preparaty, jak Ginjal, Septolete, Olbas Pastilles, Pollen kaps. i Apigardin Forte (tab. 3). Trzecia grupa obejmowała preparaty hamujące rozwój pałeczek *L. acidophilus* ATCC 4356: Terpichol, Propolis Plus, Alliofil, Urosept, Alax, Nursea Trawienie, Tinctura Salviae, Propolis Forte 10%, Pecosol i Uroval manosa (tab. 3).

W dalszych badaniach postanowiono rozszerzyć działanie 10 preparatów z ostatniej grupy na pozostałych 5 drobnoustrojów probiotycznych, tj. *Lactobacillus casei* ATCC 393, *Lactobacillus rhamnosus* Hansen 1968, *Bifidobacterium bifidum* ATCC 35914, *Streptococcus thermophilus* ATCC 14485 i *Saccharomyces boulardii* SB48 ATCC-MYA-796. Okazało się, że wyselekcjonowane preparaty działały na drobnoustroje probiotyczne w różnorodny sposób. Efekty wzajemnego oddziaływania składników powyższych preparatów ze szczepami probiotycznymi przedstawiono w tabeli 4 i 5. W tabeli 4

znalazły się preparaty działające na ich wzrost w różnorodny sposób, tj. nie wywierały wpływu, wzmagaly rozwój, bądź hamowały wzrost badanych szczepów probiotycznych. Można zatem powiedzieć, że w ich obecności niektóre szczepy zachowywały niezmienną żywotność, inne wzmagaly swój rozwój, a wzrost jeszcze innych szczepów drobnoustrojów probiotycznych był hamowany. Natomiast pozostałe 3 preparaty, tj. Tinctura Salviae, Propolis Forte 10% i Pectosol hamowały rozwój wszystkich 5 użytych w badaniach drobnoustrojów probiotycznych. Wyniki powyższego oddziaływania przedstawiono w tabeli 5.

Wnioski

1. Na podstawie przeprowadzonych badań można przyjąć, że niektóre preparaty; Tinct. Salviae, Propolis Forte 10% i Pectosol hamują wzrost wszyst-

kich drobnoustrojów probiotycznych w przewodzie pokarmowym człowieka.

2. Inne preparaty pochodzenia roślinnego, takie jak Terpichol, Alliofil, Nursea Trawienie i Uroval manosa, mogą hamować w przewodzie pokarmowym człowieka wzrost niektórych drobnoustrojów probiotycznych.
3. W związku z powyższym wymienione wyżej preparaty nie powinny być stosowane w terapii łącznie z preparatami zawierającymi drobnoustroje probiotyczne.

Piśmiennictwo

1. Kędzia A. Działanie probiotyków na organizm człowieka. Cz. I. Rola fory fizjologicznej przewodu pokarmowego. Post Fitoter 2008; 4:247-251.
2. Kędzia A. Działanie probiotyków na organizm człowieka. Cz. II. Zastosowanie probiotyków w leczeniu i profilaktyce chorób. Post Fitoter 2009; 1:50-57.
3. Molin G. *Lactobacillus plantarum* 299V. Bibliotheca IPC Probiotica 2009; 1:3-24.

otrzymano/received: 20.04.2012
zaakceptowano/accepted: 10.05.2012

Adres/address:
*mgr farm. Elżbieta Hołderna-Kędzia
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich
ul. Libelta 27, 61-707 Poznań
tel. : +48 (61) 665-95-50, fax: +48 (61) 665-95-51
e-mail: bkedzia@iripz.pl