

C. Gaspar, G.G. Donders, R. Palmeira-de-Oliveira, J.A. Queiroz, C. Tomaz, J. Martinez-de-Oliveira and A. Palmeira-de-Oliveira,
Науково-дослідний центр охорони здоров'я, м. Ковілья, Португалія

Вироблення бактеріоцину пробіотичним штамом LaKS400



Мета цього дослідження – вперше ідентифікувати та охарактеризувати бактеріоцин, що природним шляхом виробляється штамом LaKS400 (пробіотичний штам, який міститься у препараті Гінофлор® виробництва компанії Medinova AG, Швейцарія), та вивчити його протимікробну активність щодо відповідних урогенітальних патогенів.

За результатами дослідження вперше було зареєстровано новий бактеріоцин, який виробляється штамом LaKS400 (пробіотичний штам, який міститься у препараті Гінофлор® [Gynoflor®]).

Виявлений бактеріоцин є білковою протимікробною сполукою з молекулярною масою 7,5 кДа та протимікробною активністю щодо вагінальних патогенних мікроорганізмів, зокрема *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa* (патогенів, що найчастіше спричиняють вагінальні інфекції), та індикаторного штаму *Lactobacillus delbrueckii* ATCC9649.

Термін «пробіотик» походить від грецьких слів *pro* і *bios* – «для життя» й означає «живі мікроорганізми, які при застосуванні у відповідній кількості чинять сприятливий вплив на організм людини» (комітет Продовольчої і сільськогосподарської організації ООН, 2006). Протягом останніх трьох десятиліть велика увага приділялася застосуванню пробіотиків для лікування та профілактики вагінальних захворювань (Barrons and Tassone, 2008; Coudeyras et al., 2009; Nomayouni et al., 2014). Баланс між різними мікроорганізмами, з яких складається людська вагінальна мікрофлора, є важливим для підтримання її гомеостазу, що безпосередньо впливає на стан здоров'я жінки (Ravel et al., 2011; Gajer et al., 2012). Серед домінуючих мікроорганізмів бактерії роду *Lactobacillus* становлять щонайменше 70% (10^7 - 10^8 КУО [колонієутворюючих одиниць]/г вагінальної рідини) бактерій, виявлених у репродуктивній системі здорових жінок пременопаузального віку (Zhou et al., 2004; Strus et al., 2005; Anukam et al., 2006; Ravel et al., 2011).

Найпоширенішими видами бактерій *Lactobacillus* у піхві жінки є *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri* та *L. iners* (Pavlova et al., 2002; Vasquez et al., 2002; Zhou et al., 2010). У вагінальному епітелії *Lactobacillus* індукують пробіоз у два етапи: (1) колонізація поверхні епітелію, конкуренція за ділянки зв'язування та стимуляція коагрегації патогенів (конкурентне витіснення) (Zarate and Nader-Macias, 2006; Coudeyras et al., 2009; Martin et al., 2012); та (2) вироблення протимікробних метаболічних речовин, здатних контролювати збережену вагінальну мікрофлору (знищення, інгібування мікробів) (Kaewsrichan et al., 2006; Voravuthikunchai et al., 2006; Heng-Yi et al., 2008). Серед різних метаболітів, які виробляються бактеріями *Lactobacillus*, органічні кислоти (переважно молочна) та перекис водню відповідають за інгібуючу дію щодо широкого спектра мікробів (Tomas et al., 2003; O'Hanlon et al., 2013).

Крім того, повідомлялося про здатність деяких бактерій до вироблення більш специфічних протимікробних білків (бактеріоцинів) (Aroutcheva et al., 2001; Pingitore et al., 2009; Turovskiy et al., 2009). Бактеріоцини – це речовини білкової природи, які проявляють бактеріоцидну або бактеріостатичну активність щодо бактерій

близькоспоріднених видів (вузький спектр) або всього роду (широкий спектр) (Klaenhammer, 1993; Cotter et al., 2005). Грампозитивні бактерії, зокрема молочнокислі (лактобацили, лактококи та педіококи), виробляють протимікробні пептиди та білки в рибосомах, наприклад лактацин В із *Lactobacillus acidophilus* (Barefoot and Klaenhammer, 1983; Muriana and Klaenhammer, 1991), плантарицин 423 з *Lactobacillus plantarum* (Van Reenen et al., 1998), педіоцин ST18 із *Pediococcus pentosaceus* (Todorov and Dicks, 2005), нізин Q з *Lactococcus lactis* (Zendo et al., 2003) та деякі інші з інших бактерій (Netz et al., 2002; Sriannual et al., 2007). Завдяки вищезазначеним характеристикам рід *Lactobacillus* був запропонований як вагінальний пробіотик і застосовувався для відновлення балансу вагінального середовища та запобігання росту патогенів у піхві (Kaewsrichan et al., 2006; Zarate and Nader-Macias, 2006). Безпечне застосування бактерій роду *Lactobacillus* як вагінального пробіотику для людини почалося з 1915 року (Newman, 1915). В описаному дослідженні *in vitro* визначали, чи виробляє *Lactobacillus acidophilus* KS400 (LaKS400, Гінофлор® виробництва компанії Medinova AG, Швейцарія) бактеріоцин, й оцінювали його протимікробну активність.

Матеріали та методи Штами мікроорганізмів

Бактеріальні та грибові штами, застосовані в дослідженні, зокрема досліджуваний штам (LaKS400), індикаторний штам біоактивності (*Lactobacillus delbrueckii* ATCC9649) та урогенітальні патогени, відібрані для оцінки протимікробної активності білка, наведено в табл. 1. Бактеріальні та грибові штами суспендували в належному середовищі з додаванням 25% гліцерину (VWR, Іспанія) і зберігали замороженими при температурі -80 °C до моменту використання.

Якщо було необхідне агарове середовище (наприклад, для підтримання росту мікроорганізмів), до рідкого середовища додавали бактеріологічний агар (VWR, Іспанія) у кінцевій концентрації 20 г/л. М'який агар Мана, Рогози та Шарпа (MRS) готували із застосуванням бактеріологічного агару в концентрації 7,5 г/л.

Виявлення бактеріоцину

LaKS400 культивували в 10 мл бульйону MRS (VWR, Іспанія) з рН=6,5 протягом 24 год при температурі 37 °C у присутності 10% CO₂. Після інкубації клітинну культуру нагрівали при 70 °C протягом 30 хв, щоб забезпечити пригнічення активності протеази, після чого охолоджували при кімнатній температурі та центрифугували (зі швидкістю 4500 об/хв протягом 15 хв при 4 °C) у настільній центрифугі (модель Heraeus megafuge 8R компанії Thermofisher Scientific, США). Щоб нейтралізувати протимікробну дію органічних кислот, рН надосадової рідини доводили до 6,5 за допомогою 10 М розчину NaOH. Інгібуючу дію перекису водню нейтралізували шляхом додавання каталази з бичачої печінки (Sigma-Aldrich, США) у концентрації 5 мг/мл, після чого фільтрували розчин крізь целюлозно-ацетатний фільтр із розміром пор 0,2 мкм (Fisher-Scientific, Велика Британія).

Виявлення бактеріоцину виконували модифікованим методом дифузії штамів-антагоністів, описаним Tagg and McGiven (1971). В агарових пластинах робили лунки діаметром 4 мм і наповнювали безклітинною культурою надосадової рідини в об'ємі 100 мкл. Фосфатно-сольовий буферний розчин (PBS) використовували як негативний контроль. Пластини витримували при кімнатній температурі протягом 3 год, щоб відбулася дифузія бактеріоцину, після чого інкубували при 37 °C у присутності 10% CO₂ протягом 24-48 год. Активність бактеріоцину визначали шляхом макроскопічного спостереження чіткої зони інгібування на агарі.

Вироблення бактеріоцину

Щоб дослідити кінетику вироблення бактеріоцину, 500 мл бульйону MRS із рН=6,5 інокулювали штамом LaKS400 (1% об./об.) та інкубували при температурі 37 °C у присутності газоподібного азоту без перемішування. Протягом ферментації щогодини визначали скупченість бактеріальних клітин і рН культурального середовища. Кожні 2 год оцінювали протимікробну активність щодо індикаторного штаму (*Lactobacillus delbrueckii* ATCC9649), як описано вище.

Для вироблення бактеріоцину 20-годинну культуру (10 мл) LaKS400 висіювали (1% об./об.) в 1 л бульйону MRS. Періодичну ферментацію виконували протягом 24 год при температурі 37 °C, без перемішування, у присутності азоту. Ця процедура забезпечує переривання росту бактерій перед стаціонарною фазою. Таким чином, це запобігає розщепленню бактеріоцину протеазами, що вивільняються в позаклітинне середовище.

Приготування екстрактів бактеріоцину

Екстракти бактеріоцину готували згідно з методикою, описаною Yang et al. (1992), з деякими модифікаціями.

Електрофорез

Оскільки одновимірний електрофорез білків (розділення в одному вимірі) дає змогу розділити біомолекули згідно з розміром та структурою, екстракт бактеріоцину, який виявляв біоактивність проти індикаторного штаму, піддавали електрофорезу у тріцин-поліакриламідному гелі у присутності додецилсульфату натрію (Tricine-SDS-PAGE) на апараті Bio-Rad Mini Protean 3 Cell (Bio-Rad, США).

Протимікробна активність

Протимікробну активність бактеріоцину оцінювали методом мікророзведень, описаним в інших публікаціях (Standards, 2006; Rex et al., 2008).

Таблиця 1. Бактеріальні та грибові штами, застосовані в дослідженні

Мікроорганізми	Джерело постачання	Умови росту (середовище, температура та атмосферні умови)
LaKS400	Компанія Medinova	Бульйон MRS (MRSB), 37 °C, 10% CO ₂
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ATCC9649a	Американська колекція типових культур (ATCC)	Бульйон MRS (MRSB), 37 °C, 1% CO ₂
<i>Gardnerella vaginalis</i> 586876	Клінічні ізоляти	Середовище NYCIIIВ, 37 °C, 10% CO ₂
<i>Gardnerella vaginalis</i> 563765	Клінічні ізоляти	Середовище NYCIIIВ, 37 °C, 10% CO ₂
<i>Gardnerella vaginalis</i> 568799	Клінічні ізоляти	Середовище NYCIIIВ, 37 °C, 10% CO ₂
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	Колекційні зразки	Триптон-соєвий бульйон (TSB), 37 °C, аеробні умови
<i>Streptococcus agalactiae</i> 181324	Клінічні ізоляти	Бульйон із серцево-мозковим екстрактом (ВНІВ), 37 °C, аеробні умови
<i>Streptococcus agalactiae</i> 179954	Клінічні ізоляти	Бульйон із серцево-мозковим екстрактом (ВНІВ), 37 °C, аеробні умови
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC15442	Колекційні зразки	Триптон-соєвий бульйон (TSB), 37 °C, аеробні умови
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	Колекційні зразки	Триптон-соєвий бульйон (TSB), 37 °C, аеробні умови
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	Колекційні зразки	Бульйон із серцево-мозковим екстрактом (ВНІВ), 37 °C, аеробні умови

Примітка: а – індикаторний мікроорганізм.

Продовження на стор. 14.

C. Gaspar, G.G. Donders, R. Palmeira-de-Oliveira, J.A. Queiroz, C. Tomaz, J. Martinez-de-Oliveira and A. Palmeira-de-Oliveira,
Науково-дослідний центр охорони здоров'я, м. Ковілья, Португалія

Вироблення бактеріоцину пробіотичним штамом LaKS400

Продовження. Початок на стор. 13.

Результати

Виявлення бактеріоцину

Протимікробна активність бактеріоцину, виробленого штамом LaKS400 та отриманого із профільтованого культурального середовища після нейтралізації органічних кислот і перекису водню, показала чітку зону інгібування в агарі порівняно з негативним контролем (PBS) (інгібування не спостерігалось), при цьому *Lactobacillus delbrueckii* ATCC9649 застосовувався як індикаторний організм (рис. 1).

Вироблення бактеріоцину та кінетика метаболітів

Органічні кислоти, які виробляються бактеріями роду *Lactobacillus* (внаслідок ферментації вуглеводів), індукують зменшення рН середовища. Метод періодичної ферментації підтверджує зменшення рН, яке відбувається внаслідок акумуляції органічних кислот в позаклітинному середовищі (рис. 2, синя лінія). Після 36 год ферментації LaKS400 значення рН становило 4,3. У цьому дослідженні

протимікробну дію органічних кислот нейтралізували шляхом додавання лужного розчину, щоб усунути їх можливий вплив при оцінюванні протимікробної активності бактеріоцину. Крім того, ми також враховували, що протягом періодичної ферментації, яка є складовою частиною процедури, може вироблятися певна кількість перекису водню, тому ми здійснили його каталізацію шляхом додавання каталази у середовище після завершення ферментації.

Отже, відносну активність бактеріоцину визначали у зразку, який виявив найвищу біоактивність (через 30 год). Профілі періодичної ферментації LaKS400 вказували на те, що вироблення бактеріоцину було більш вираженим і явно підвищеним протягом експоненційної фази росту, після чого знижувалося в фазі стаціонарного росту, як показано на рис. 2а (оранжеві стовпчики).

Після 32 год ферментації спостерігалася втрата протимікробної активності бактеріоцину (рис. 2), про що свідчило зменшення ореолу інгібування.

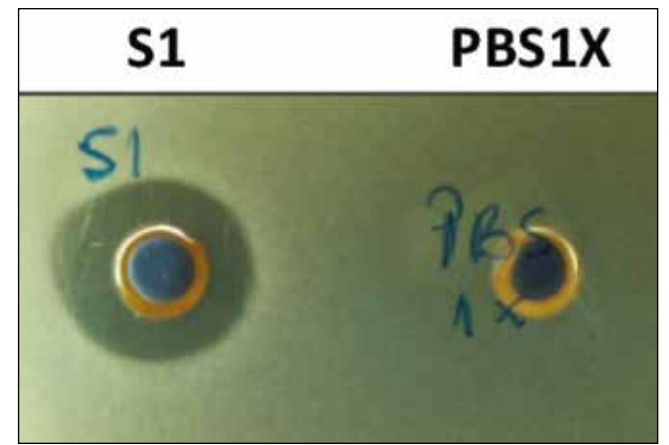


Рис. 1. Протимікробна активність бактеріоцину пробіотичного штаму LaKS400 щодо штаму *Lactobacillus delbrueckii* ATCC9649. Тестування екстракту культури LaKS400 методом дифузії в агарі (Tagg and McGiven, 1971); S1 – культуральне середовище з середовища LaKS400; PBS 1X – негативний контроль, що відповідає 1 фосфатно-сольового буферного розчину

Молекулярна маса бактеріоцину

Розділення білків та оцінку біоактивності здійснювали із застосуванням індикаторного штаму (*Lactobacillus delbrueckii* ATCC9649) безпосередньо під час гель-електрофорезу (рис. 2b), щоб ідентифікувати активний білок. При екстракції білків шляхом Tricine-SDS-PAGE гель-електрофорезу спостерігалася одна зона пригнічення росту в місці, де на шар гелю було нанесено індикаторний штам (рис. 3). Додавання β -меркаптоетанолу не впливало на протимікробну активність бактеріоцину (+ β на рис. 3).

Білок, що виявляв протимікробну активність при гель-електрофорезі, відповідав смузі з розрахованою молекулярною масою приблизно 7,5 кДа, з урахуванням того, що біоактивність і смуга бактеріоцину відзначалися на рівні нижче маркерного білка з масою 11 кД.

Активність бактеріоцину проти патогенних штамів

Екстракт бактеріоцину LaKS400 тестували проти індикаторного штаму, патогенних бактерій (включно з колекційними зразками та клінічними ізолятами) та штаму *Candida albicans* ATCC10231, як показано в табл. 2. Було встановлено, що екстракт бактеріоцину пригнічує ріст індикаторного штаму *Lactobacillus delbrueckii* ATCC9649, а також штамів *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae* та *Pseudomonas aeruginosa*.

Коментар

Метою дослідження було оцінити здатність LaKS400 виробляти бактеріоцин із протимікробною активністю щодо урогенітальних патогенів, з виявленням механізму дії, про який не повідомлялося в попередніх дослідженнях цього штаму *in vitro* (Unlu and Donders, 2011).

Вироблення та виявлення бактеріоцину здійснювалося *in vitro* та супроводжувалося утворенням інших бактеріальних метаболітів (таких, як молочна кислота та перекис водню), які раніше були описані для цього штаму. Таким чином, щоб переконатися в тому, що оцінювана біоактивність екстракту білка не пов'язана з цими метаболітами, їхній вплив нейтралізували. Отже, результати експерименту дають підстави припустити, що штам LaKS400 в позаклітинному культуральному середовищі виробляє та секретує бактеріоцин, який є білковою протимікробною сполукою. Вироблення бактеріоцину відбувається протягом експоненційної фази та досягає максимуму у стаціонарній фазі кривої росту штаму (через 24-30 год після початку ферментації), як зазначалося також щодо інших бактеріоцинів (De Vuyst and Vandamme, 1992; De Vuyst et al., 1996; Zamfir et al., 2000).

Проте після 32 год ферментації спостерігалася втрата протимікробної активності бактеріоцину. Ця зміна біоактивності може бути пов'язана з агрегацією білків або протеолітичною деградацією бактеріоцину (Law and Kolstad, 1983).

На підставі наведених результатів ми дійшли висновку, що LaKS400 виробляє бактеріоцин із очікуваним розміром 7,5 кДа. Молекулярна маса знаходиться у межах діапазону мас, які найчастіше зустрічаються у бактеріоцинів із бактерій роду *Lactobacillus* (De Vuyst and Vandamme, 1994). Розмір виявлених бактеріоцинів, що виробляються бактеріями *Lactobacillus acidophilus*, становить від 2,5 до 100 кДа (Barefoot and Klaenhammer, 1983; Muriana and Klaenhammer, 1991; Zamfir et al., 1999). Крім того, не спостерігалось зниження протимікробної активності екстракту бактеріоцину у присутності β -меркаптоетанолу. Результат свідчить про те, що активність не пов'язана

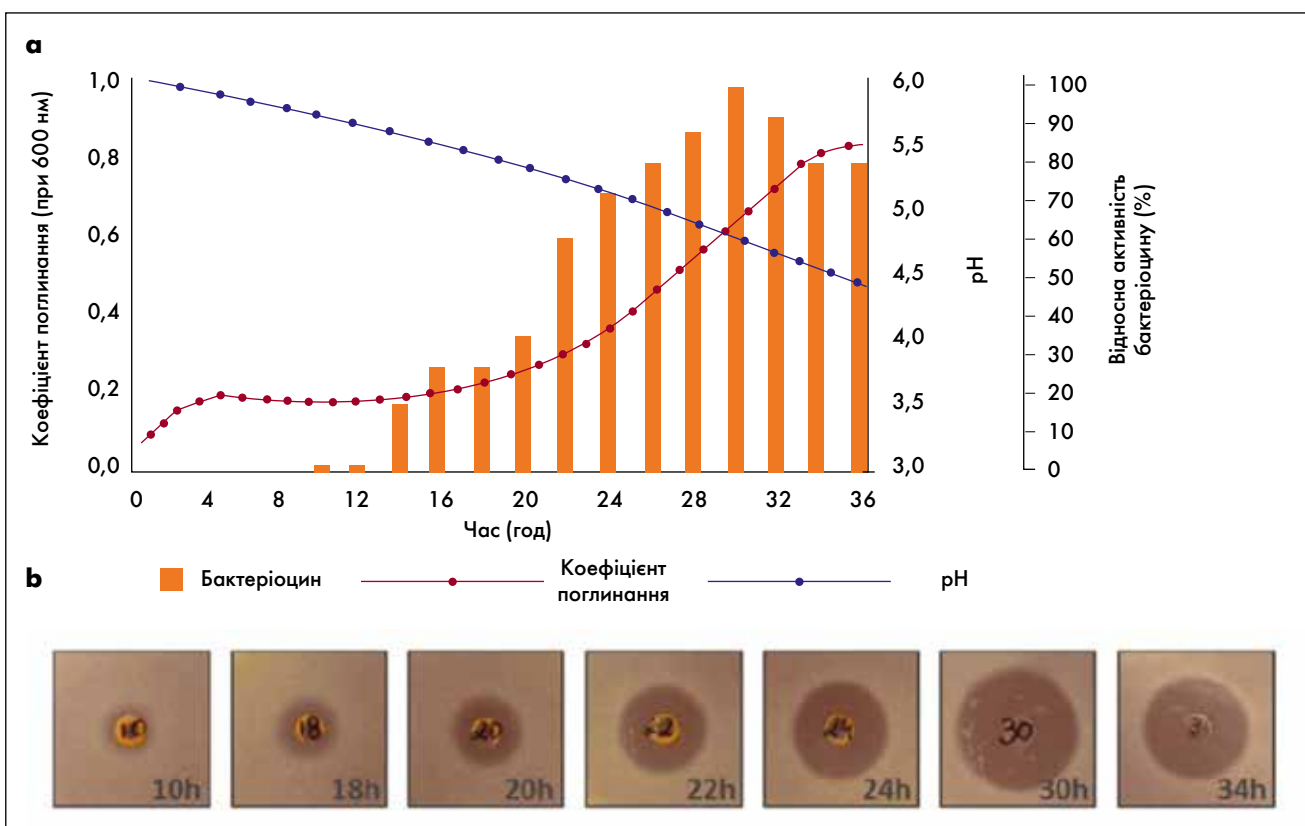


Рис. 2. а – Періодична ферментація штаму LaKS400 в бульйоні MRS із неконтрольованим рН (початкове значення – 6,5) при температурі 37 °С. Ліва вісь: коефіцієнт поглинання (Abs) при 600 нм; основна права вісь: значення рН; додаткова права вісь: відносна активність бактеріоцину (%); нижня вісь: час (год). Позначки: (•) оптична щільність при 600 нм; (•) зміни в значеннях рН; (оранжеві стовпчики) вироблення бактеріоцину.

б – Протимікробна активність штаму LaKS400 протягом ферментації; визначали активність проти *Lactobacillus delbrueckii* ATCC9649, пластини інкубували при температурі 37 °С; 10% CO₂

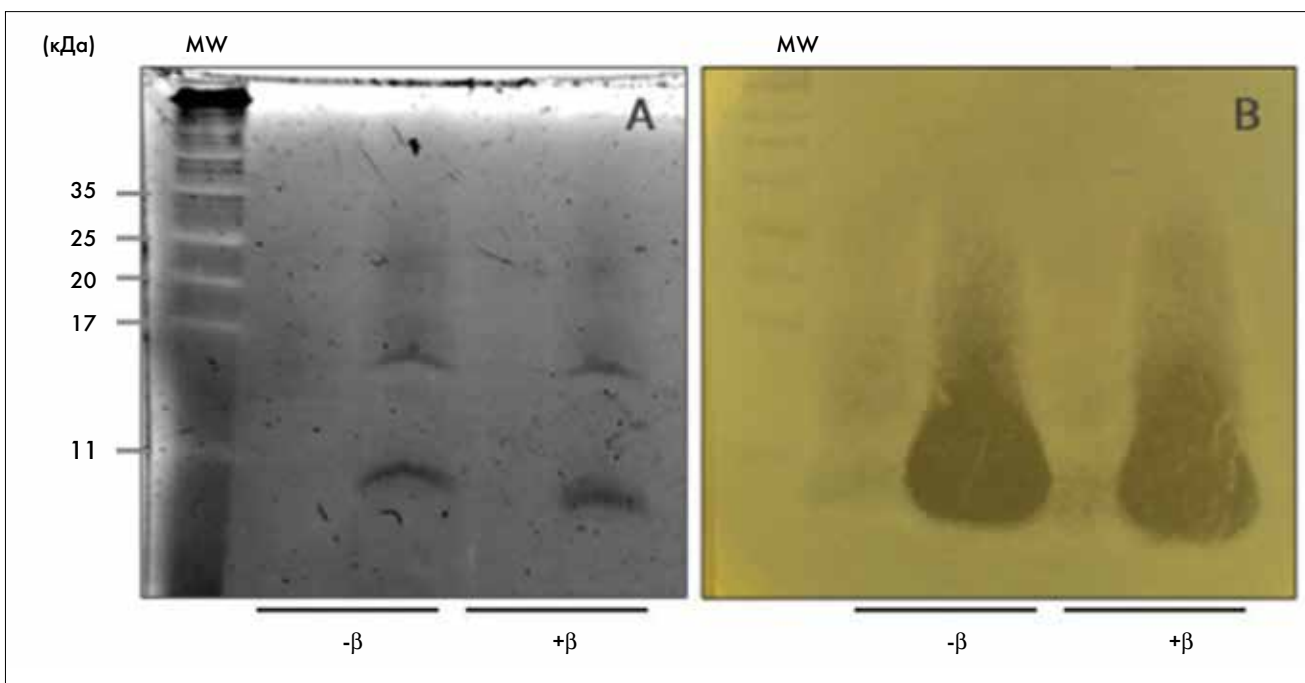


Рис. 3. Пряме виявлення протимікробної активності бактеріоцину LaKS400 (А) Tricine-SDS-PAGE гель-електрофорезом здійснювалося за допомогою системи ChemiDoc™ MP (BioRad) із застосуванням режиму без фарбування для білкових гелів: (MW) молекулярні маси стандартних білків (NZYTECH, Португалія); - β / $+$ β – відсутність та присутність β -меркаптоетанолу (В) Зона пригнічення росту відповідає положенню протимікробного білка (бактеріоцину)

Таблиця 2. Інгібуєчий спектр протимікробного бактеріоцину, який виробляється бактеріями LaKS400, щодо індикаторного штаму та патогенних мікроорганізмів

Мікроорганізми	Джерело постачання	Умови росту	Інгібування
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ATCC9649a	Колекційні зразки	Бульйон MRS (MRSB), 37 °C, 10% CO ₂	+
<i>Gardnerella vaginalis</i> 586876	Клінічні ізоляти	Середовище NYCIIIВ, 37 °C, 10% CO ₂	+
<i>Gardnerella vaginalis</i> 563765	Клінічні ізоляти	Середовище NYCIIIВ, 37 °C, 10% CO ₂	+
<i>Gardnerella vaginalis</i> 568799	Клінічні ізоляти	Середовище NYCIIIВ, 37 °C, 10% CO ₂	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	Колекційні зразки	Триптон-соевий бульйон (TSB), 37 °C, аеробні умови	-
<i>Streptococcus agalactiae</i> 181324	Клінічні ізоляти	Бульйон із серцево-мозковим екстрактом (ВНІВ), 37 °C, аеробні умови	+
<i>Streptococcus agalactiae</i> 179954	Клінічні ізоляти	Бульйон із серцево-мозковим екстрактом (ВНІВ), 37 °C, аеробні умови	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC15442	Колекційні зразки	Триптон-соевий бульйон (TSB), 37 °C, аеробні умови	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	Колекційні зразки	Триптон-соевий бульйон (TSB), 37 °C, аеробні умови	-
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	Колекційні зразки	Бульйон із серцево-мозковим екстрактом (ВНІВ), 37 °C, аеробні умови	-

Примітка: а – індикаторний мікроорганізм.

з наявністю дисульфідних містків. Це характерно для бактеріоцинів II класу, оскільки вони містять у своєму складі щонайменше два цистеїни, які утворюють хімічний зв'язок (Ennahar et al., 2000). Дисульфідні містки виявлені в деяких видах бактерій роду *Lactobacillus*, зокрема *L. curvatus* (Tichaczek et al., 1993), *L. plantarum* (Ennahar et al., 1996), *L. sake* (Schillinger and Lucke, 1989) та ін. Можливо, будуть проведені подальші дослідження, які включають клонування, експресію та виділення з переносника та мікроорганізму-хазяїна з метою встановлення його функції.

Паралельно ми провели тести для оцінки протимікробної біоактивності екстракту бактеріоцину щодо деяких урогенітальних патогенів. Було встановлено, що екстракт бактеріоцину інгібує ріст індикаторного

штаму, грамположитивних бактерій (*Gardnerella vaginalis* і *Streptococcus agalactiae*) та грамнегативних бактерій *Pseudomonas aeruginosa*. Проте не спостерігалось протимікробного ефекту щодо застосовуваних штамів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Candida albicans*.

Такий результат був досить очікуваним, оскільки бактеріоцини діють переважно проти бактерій близькоспоріднених видів, тоді як протигрибкова активність лактобацил пов'язана з іншими протимікробними ефектами, наприклад із конкуренцією за ділянки зв'язування. Аналогічні результати спостерігалися ще в одному опублікованому дослідженні (Mitra et al., 2005), хоча зазначалося, що бактеріоцини, які виробляються молочнокислими бактеріями (зокрема, *Lactobacillus*), активні переважно проти

грамположитивних бактерій (Jack et al., 1995; Heng et al., 2007). Крім того, було опубліковано кілька досліджень щодо бактеріоцинів, які виробляються бактеріями *Lactobacillus acidophilus*. Наприклад, *Lactobacillus acidophilus* DSM20079 виробляв протимікробний бактеріоцин (ацидоцин D20079) з молекулярною масою близько 6,6 кДа, який проявляв інгібуєчу активність щодо *Lactobacillus*, зокрема *Lactobacillus lactis* DSM20076 (підвид *Lactobacillus delbrueckii*), *Lactobacillus bulgaricus* DSM20080 та *Lactobacillus sakei* NCDO2714, але не спостерігалось помітної активності проти інших патогенів (Deraz et al., 2005). Інші дослідники зазначали, що активні бактеріоцини, які виробляються бактеріями *Lactobacillus acidophilus*, являють собою малі пептиди з різними фізико-хімічними властивостями. Що стосується *Lactobacillus acidophilus* JCM1132, то було описано термостійкий двокомпонентний бактеріоцин (J1132), який виявляє інгібуєчу активність вузького спектра проти непатогенних штамів (Tahara et al., 1996), а для *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356 було ідентифіковано бактеріоцин із молекулярною масою 3,1 кДа, активний проти патогенних штамів (Han et al., 2002).

Висновки

Ці результати підтверджують пробіотичну ефективність LaKS400 (пробіотичний штам, який міститься у препараті Гінофлор®) у разі його застосування при вагінальних або інших патологіях. Фактично у цьому дослідженні вперше було зареєстровано новий бактеріоцин, який виробляється штамом LaKS400, з розрахунковим розміром 7,5 кДа та протимікробною активністю щодо вагінальних патогенних мікроорганізмів, зокрема *Gardnerella vaginalis* і *Streptococcus agalactiae*, двох патогенів, що найчастіше спричиняють вагінальні інфекції.

Отримані результати підтверджують новий механізм дії цього пробіотичного штаму й обґрунтовують його застосування у клінічній практиці для лікування та профілактики вагінальних інфекцій. Можуть бути проведені подальші дослідження з метою вдосконалення вироблення, виділення, очищення бактеріоцину та вивчення можливого механізму його дії.

За матеріалами: С. Gaspar, G.G. Donders, R. Palmeira-de-Oliveira et al. Bacteriocin production of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* KS400. AMB Express. 2018; 8: 153.

3v



СПЕЦІАЛІЗОВАНИЙ МЕДИЧНИЙ ПОРТАЛ

**Електронні версії усіх друкованих видань
Видавничого дому «Здоров'я України»
на одному сайті!**

Наша сторінка Facebook



Наш сайт

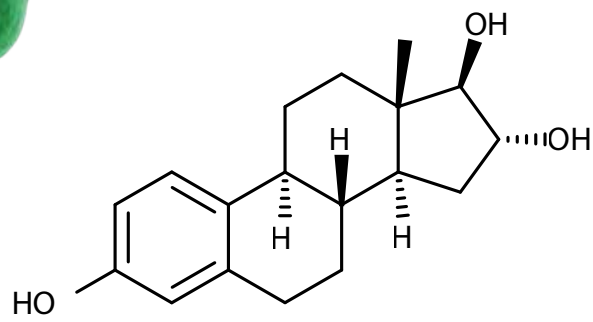








ЛАКТОБАКТЕРІЇ
що продукують перекис
та бактеріоцини*



ЕСТРІОЛ
0,03 мг



Вагініт

Бактеріальний
вагіноз

Атрофічний
кольпіт



Інформація про лікарський засіб для спеціалістів сфери охорони здоров'я. Для розповсюдження на семінарах, конференціях, симпозиумах з медичної тематики.
Гінофлор. Реєстраційне посвідчення UA/1851 /01/01. DMUA.GYN.20.05.01

* Bacteriocin Production of the Probiotic Lactobacillus Acidophilus KS400
C Gaspar et al, 2018. Інструкція до лікарського засобу Гінофлор.