

О.І. Голяр

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ САМОВІДНОВЛЕННЯ МІКРОФЛОРИ ТОВСТОЇ КИШКИ ПІСЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ВИКОРИСТАННЯ ТЕТРАЦИКЛІНУ ГІДРОХЛОРИДУ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Самовідновлення мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки характеризується поступовим (на 30,3-35,1 %) зростанням автохтонних облигатних бактерій (біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій). Популяційний рівень, індекс постійності та коефіцієнт кількісного домінування в автохтонних факультативних бактерій залишаються практично незмінними. При цьому настає контамінація порожнини товстої кишки дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Мікробіота приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої кишки під впливом перорального введення 20 мг/кг тетрацикліну гідрохлориду зазнає глибших змін. Процес самовідновлення мукозної мікрофлори характеризується зростанням популяційного рівня, індексу постійності та коефіцієнту кількісного домінування у лактобактерій, бактероїдів, пептокока, клостридій, ентеробактерій та стафілококів, появою біфідобактерій у 40 % тварин. В інших 40 % білих щурів слизова оболонка товстої кишки була контамінована дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Ключові слова: мукозна і порожнинна мікрофлора товстої кишки, тетрацикліну гідрохлорид.

Мікробіота товстої кишки виконує надзвичайно широкий спектр функцій, які підтримують нормальний стан не тільки кишечнику, але й інших життєво важливих органів і систем макроорганізму [1, 2]. Використання антибіотиків призводить до виходу із стану рівноваги, що викликає мікроекологічні та імунні порушення [3, 4]. Це призводить до домінування умовно-патогенних мікробів, посилення генетичного обміну, що сприяє формуванню клонів, які несуть гени резистентності та генетичні детермінанти «острівців» патогенності, асоційованих з адгезивними, цитотоксичними та іншими ознаками патогенності (Марусик Г.П. та співав., 2010; Wald E.R., 2001). Як правило, мікрофлора будь-якого біотопу після його порушення

має великі можливості щодо самовідновлення [5-7]. Ступінь цього процесу залежить від багатьох факторів, у першу чергу, від природи фактора, що призводить до порушень мікробіоти, його дози та терміну дії [5]. Виходячи із перерахованого, нами проведені експериментальні дослідження мікробіоти товстої кишки білих щурів, яким протягом 5 днів вводили перорально тетрациклін у дозі 20 мг/кг (середня терапевтична доза).

Мета – встановити основні показники (популяційний рівень, індекс постійності та коефіцієнт кількісного домінування таксону) мікробіоти товстої кишки через 10 днів після завершення перорального введення тетрацикліну гідрохлориду.

Матеріали і методи

Вивчення мікрофлори товстої кишки проведено на 15 білих щурах, 10 з яких склали контрольну групу, які отримували антибіотик у дозі 20 мг/кг протягом 5 днів. Вони піддані дослідженню популяційного рівня та видового складу мікрофлори товстої кишки. П'ять тварин, яким також вводили перорально тетрациклін, залишені на 10 днів для встановлення у них стану мікрофлори товстої кишки після десятиденного самовідновлення.

Експериментальна робота проводилась із дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та Постанови Першого Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). Біоетичною комісією Буковинського державного медичного університету порушень морально-етичних норм під час проведення досліджень не виявлено.

Видовий склад та популяційний рівень мікрофлори вмісту порожнини товстої кишки, а також мікробіоти приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої кишки вивчали бактеріологічним та мікологічним методами.

Одержані цифрові дані результатів дослідження обробили статистично за методом варіаційної статис-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

тики на персональному комп'ютері IBM Pentium з визначенням ($M \pm m$) та критерію t . За таблицею Ст'юдента визначали коефіцієнт достовірності p . Статистично достовірною вважали різницю при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Проведені бактеріологічні та мікологічні дослідження мікрофлори вмісту порожнини товстої кишки показали активне (через 10 днів) віднов-

лення мікробіоти порожнини товстої кишки в експериментальних тварин, які протягом 5 днів одержували перорально тетрациклін. Результати вивчення провідних показників (популяційного рівня, індексу постійності та коефіцієнту кількісного домінування) мікрофлори вмісту порожнини товстої кишки тварин, у яких процес самовідновлення здійснювався протягом 10 днів, наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Ефективність самовідновлення мікробіоти порожнини товстої кишки експериментальних тварин, які отримували протягом 5 днів тетрациклін у дозі 20 мг/кг

Мікроорганізми	Після введення антибіотика (n=10)			Самовідновлення через 10 днів після завершення введення антибіотика (n=5)			p
	Популяційний рівень ($M \pm m$)	Індекс постійності, %	Коефіцієнт кількісного домінування, %	Популяційний рівень ($M \pm m$)	Індекс постійності, %	Коефіцієнт кількісного домінування, %	
I. Анаеробні бактерії							
Біфідобактерії	5,44±0,17	40,0	29,01	7,35±0,14	60,0	56,32	<0,01
Лактобактерії	5,45±0,20	70,0	50,87	7,10±0,22	80,0	72,54	<0,01
Еубактерії	5,66±0,10	30,0	22,64	8,95±0,07	40,0	45,72	<0,01
Бактероїди	8,85±0,23	100,0	118,13	8,94±0,24	100,0	114,18	>0,05
Пептострептококи	6,30	10,0	8,40	6,78	20,0	17,32	-
Пептокок	8,52±0,50	60,0	68,16	8,82±0,17	80,0	90,11	>0,05
Клостридії	8,81±0,15	50,0	58,73	8,95±0,07	40,0	45,72	>0,05
II. Аеробні та факультативно анаеробні бактерії							
Кишкова паличка	9,01±0,21	100,0	120,13	9,34±0,13	100,0	119,28	>0,05
<i>E. coli</i> Nly+	8,99±0,32	60,0	71,92	8,38±0,13	80,0	85,62	>0,05
Протеї	4,30±0,34	100,0	57,33	5,40±0,14	100,0	68,97	<0,05
Едвардсієли	8,84±0,20	50,0	58,93	8,70±0,34	60,0	66,67	>0,05
Клебсієли	8,79±0,20	30,0	35,16	9,03±0,30	100,0	115,33	>0,05
Ервінії	8,89±0,09	60,0	71,12	8,69±0,12	40,0	44,39	>0,05
Ентерококи	7,72±0,10	30,0	30,88	0	-	-	-
Стафілококи	5,87±0,20	50,0	39,13	6,30±0,21	40,0	32,18	>0,05
Сінна паличка	8,61±0,40	30,0	34,44	0	-	-	-
Дріжджоподібні гриби роду <i>Candida</i>	0	-	-	4,79±0,20	60,0	36,70	-

Процес самовідновлення (через 10 днів) мікробіоти порожнини товстої кишки в експериментальних тварин, у яких дисбактеріоз моделювали шляхом перорального введення тетрацикліну у середній терапевтичній дозі (20 мг/кг), проходить у 3 напрямках. У першу чергу зростає абсолютна кількість автохтонних облигатних анаеробних, фізіологічно корисних біфідобактерій – на 35,1 %, лактобактерій – на 30,3 %, еубактерій – на 58,1 %, протеїв – на 25,6 % ($p < 0,001-0,05$).

Кількість патогенних (ентеротоксигенних ешерихій) та умовно патогенних (кишкових паличок, едвардсієл, клебсієл, ервіній) ентеробактерій, ста-

філококів, бактероїдів, пептокока та клостридій залишається практично незмінною. Коефіцієнт кількісного домінування значно зростає у пептокока – на 32,2 %, клебсієл – у 3,3 рази, в ервіній він знижується – на 60,3 %, у стафілококів – на 55,4 %. На такому фоні у порожнині товстої кишки експериментальних тварин у процесі самовідновлення елімінують із кишечника ентерококи і сінна паличка та настає контамінація цього біотопу дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Таким чином, процес самовідновлення через 10 днів мікрофлори вмісту порожнини товстої кишки експериментальних тварин, які отримували

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

5 днів тетрациклін, проходить за рахунок поступового зростання популяційного рівня, індексу постійності та коефіцієнту кількісного домінування в автохтонних облигатних біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій та інших, елімінації із товстої кишки ентерококів і сінної палички (транзиторний мікроб). При цьому популяційний рівень, індекс постійності та коефіцієнт кількісного домінування практично не змінюються у бактероїдів, пептокока, клостридій, кишкових паличок, у тому числі патогенних, та інших умовно патогенних ентеробактерій, стафілококів. Тобто, процес самовідновлення порожнинної мікрофлори проходить

повільно, що дає можливість контамінувати порожнину товстої кишки дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Суттєву роль у відновленні мікрофлори кишечника відіграє мікробіота, що колонізує слизову оболонку кишечника (мукозна мікрофлора) – мікробіота приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої кишки. Результати вивчення самовідновлення мікробіоти приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої кишки експериментальних тварин, які отримували тетрацикліну гідрохлорид протягом 5 днів у дозі 20 мг/кг, наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Рівень самовідновлення мікробіоти слизової оболонки товстої кишки експериментальних тварин, які отримували протягом 5 днів тетрациклін у дозі 20 мг/кг

Мікроорганізми	Після введення антибіотика (n=10)			Самовідновлення через 10 днів після завершення введення антибіотика (n=5)			p
	Популяційний рівень (M±m)	Індекс постійності, %	Коефіцієнт кількісного домінування, %	Популяційний рівень (M±m)	Індекс постійності, %	Коефіцієнт кількісного домінування, %	
I. Анаеробні бактерії							
Біфідобактерії	0	-	-	5,38±0,01	40,0	45,02	-
Лактобактерії	3,46±0,22	50,0	45,29	4,86±0,17	100,0	103,40	<0,05
Бактероїди	5,14±0,30	100,0	134,55	6,86±0,34	100,0	130,96	<0,05
Пептострептококи	0	-	-	4,60	20,0	4,18	-
Пептокок	3,98±0,17	50,0	52,09	4,93±0,13	60,0	61,88	<0,05
Клостридії	3,96±0,16	40,0	41,17	4,76±0,15	60,0	59,75	<0,05
II. Аеробні та факультативно анаеробні бактерії							
Кишкова паличка	3,80±0,30	100,0	99,48	5,70±0,11	100,0	119,25	<0,01
Клебсієли	3,56±0,24	30,0	27,96	4,54±0,34	40,0	37,99	<0,05
Едвардсієли	3,72±0,10	30,0	29,21	4,69±0,13	40,0	39,25	<0,01
Ервінії	3,50±0,17	30,0	27,49	3,78	20,0	15,82	-
Протеї	3,33±0,27	30,0	26,15	4,00±0,08	80,0	66,95	<0,05
Стафілококи	3,76±0,25	70,0	68,90	4,76±0,15	60,0	59,75	<0,05
Дріжджоподібні гриби роду <i>Candida</i>	0	-	-	3,89±0,15	40,0	32,55	-

Показано, що в експериментальних тварин, які отримували протягом 5 днів тетрациклін, із слизової оболонки елімують біфідобактерії у всіх тварин, лактобактерії – у 50 % тварин, відсутні пептострептококи, а також дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Усі мікроорганізми мали низький популяційний рівень (результат дії антибіотика), індекс постійності та коефіцієнт кількісного домінування (виняток складають бактероїди та кишкові палички). Домінуючими бактеріями, що виявляються у приєпітеліальній біоплівці, були умовно патогенні бактероїди, кишкова паличка та стафілококи. Все це засвідчує про глибокі порушення

мікробіоти приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки товстої кишки як результат отримання тетрацикліну протягом 5 днів.

Процес самовідновлення мікробіоти слизової оболонки товстої кишки проходить повільно. Так, біфідобактерії на слизовій оболонці товстої кишки появляються лише у 2 із 5 тварин, приєпітеліальна біологічна плівка продовжує бути заселеною лактобактеріями, бактероїдами, умовно патогенними (кишковими паличками, клебсієлами, едвардсієлами, ервініями, протеями) ентеробактеріями та стафілококами. При цьому слизова оболонка в процесі самовідновлення контамінується

ся дріжджоподібними грибами роду *Candida*, що є одним із небезпечних моментів для макроорганізму. Позитивним є зростання популяційного рівня, індексу постійності та коефіцієнту кількісного домінування в автохтонних облигатних бактерій – бактероїдів та кишкових паличок, які посідають домінуюче положення у мікробіоті приепітеліальної біоплівки слизової оболонки товстої кишки експериментальних тварин з дисбактеріозом. Негативним є те, що умовно патогенні ентеробактерії, стафілококи, пептокок та клостридії у більшості тварин продовжують виявлятися у підвищеному популяційному рівні, який вищий у всіх тварин порівняно з вихідним рівнем, що засвідчує про поступове, але мало ефективне самовідновлення мукозної мікрофлори (приепітеліальної біологічної плівки) товстої кишки. Таким чином, самовідновлення протягом 10 днів мікрофлори товстої кишки (вмісту порожнини та приепітеліальної біологічної плівки слизової оболонки) в експериментальних тварин, які отримували перорально тетрациклін у середній терапевтичній дозі (20 мг/кг), проходить повільно і характеризується поступовим зростанням популяційного рівня, індексу постійності та коефіцієнту кількісного домінування в автохтонних облигатних біфідобактерій і лактобактерій, як у порожнині, так і на слизовій оболонці товстої кишки. При цьому зберігаються популяційні рівні, індекс постійності та коефіцієнт кількісного домінування в умовно патогенних бактероїдів, пептокока, клостридій, ентеробактерій та стафілококів. Процес самовідновлення супроводжується контамінацією як порожнини, так і слизової оболонки товстої кишки дріжджоподібними грибами роду *Candida*. Для досягнення більш швидкого самовідновлення необхідно для деконтамінації та корекції мікробіоти товстої кишки (порожнини та приепітеліальної біологічної плівки слизової оболонки) використовувати зразу після завершення «антибіотикотерапії» пробіотики різного походження.

Висновки

1. Самовідновлення мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки характеризується поступовим (на 30,3-35,1 %) зростанням автохтонних облигатних бактерій (біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій). Популяційний рівень, індекс постійності та коефіцієнт кількісного домінування в автохтонних факультативних бактерій залишаються практично незмінними. При цьому настає контамінація порожнини товстої кишки дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

2. Мікробіота приепітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої кишки під впливом перорального введення 20 мг/кг тетрацикліну гідрохлориду зазнає глибших змін. Процес самовідновлення мукозної мікрофлори характеризується зростанням популяційного рівня, індексу постійності та коефіцієнту кількісного домінування у лактобактерій, бактероїдів, пептокока, клостридій, ентеробактерій та стафілококів, появою біфідобактерії у 40 % тварин. В інших 40 % білих щурів слизова оболонка товстої кишки була контамінована дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Перспективи подальших досліджень. Для ефективності відновлення мікробіоти товстої кишки необхідно вивчити вплив пробіотиків на нормалізацію показників мікрофлори цього біотопу.

Література

1. Бондаренко В.М. Острова патогенности бактерий // Журн. микробиол. – 2001. – № 4. – С. 67-74.
2. Воробьев А.А., Лыкова Е.А. Бактерии нормальной микрофлоры: биологические свойства и защитные функции // Журн. микробиол. – 1999. – № 6. – С. 102-105.
3. Чекман І.С. Запобігання дисбактеріозу кишечника під час проведення антибіотикотерапії // Ліки України. – 2001. – № 6. – С. 39-40.
4. Бактериально-грибковые ассоциации кишечника в условиях колонизации дрожжеподобными грибами рода *Candida* / Бухарин О.В., Вальшев А.В., Перунова Н.Б. и др. // Журн. микробиол. – 2002. – № 5. – С. 45-48.
5. Adam D., Scholz H., Helmerking M. Comparison of short-course (5 day) cetuxime axetil with a standard 10 day oral penicillin V regimen in the treatment of tonsillopharyngitis // J. Antimicrob. Chemother. – 2000. – Vol. 45, Suppl. 23. – P. 30-34.
6. Чекман І.С. Фармакотерапія дисбактеріозу кишечника // Лікарська справа. – 2000. – № 7-8. – С. 6-11.
7. Ардатская М.Д., Дубинин А.В., Минушкин О.Н. Дисбактериоз кишечника: современные аспекты изучения проблемы, принципы диагностики и лечения // Терапевт. архив. – 2001. – № 2. – С. 67-72.
8. Барановский А.Ю. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника. – 2-е изд., испр. / А.Ю. Барановский, Э.А. Кондрашина. – СПб: Питер, 2002. – 209 с.

EXPERIMENTAL STUDY OF MICROFLORA OF INTESTINE AFTER PERORAL USE OF HYDROCHLORIDE TETRACYCLINE

O.I. Holyar

SUMMARY. *Selfrecovery of the large intestine cavity microbiota is characterized by gradual (30,3-35,1 %) increase of autochthonous obligatory bacteriums (bifidobacteriums, lactobacteriaci, eubacteriums). A population level, a constancy index and a quantitative*

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

coefficient of prevalence of autochthonous facultative bacteriums are remained mostly unchanged. At the same time there is a contamination of the large intestine cavity with the yeastlike fungi Candida. The middle dose tetracycline hydrochloride (20 mg/kg) causes a considerable changes in the microbiota in the biological layer on mucus membrane of large intestine. The selfrecovery process of mucose membrane microbiota is characterized by the increase population level constancy index and a quantitative coefficient of prevalence of

lactobacteriaci, bacterides, peptostreptococci, clostridium, enterobacterici and staphylococci. There are appeared bifidobacteriums in 40 % of experimental rats. In the other 40 % of rats the mucus membrane of large intestine was contaminated by the yeastlike fungi Candida.

Key words: *mucus membrane microbiota, large intestine, tetracycline hydrochloride.*

Отримано 15.03.2011 р.

© Криворутченко Ю.Л., Постнікова О.М., 2011
УДК 582.282.23:615.28-084-08.001.6

Ю.Л. Криворутченко, О.М. Постнікова

ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО МІРАМІСТИНУ СЬОГОДНІ

Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського

За допомогою методу визначення швидкості інактивзації мікроорганізмів in vitro вивчено чутливість Staphylococcus aureus, Escherichia coli та Candida albicans до мірамістину (М), який було представлено у формі антисептиків окомістину (0,01 % М) і дезмістину (0,1 % М). Досліджені мікроби повністю гинули протягом 15 хв інкубації з дезмістином. Окомістин знищував стафілококи за той же час, але пригнічував E. coli та C. albicans повільніше. Обговорюються причини розбіжностей між одержаними результатами і даними дослідників, які твердили, що окомістин не має протимікробної дії.

Ключові слова: *мірамістин, визначення ефективності антисептиків, бактерії, C. albicans.*

Розповсюдження збудників інфекцій, резистентних до антибіотиків, антисептиків і дезінфектантів, є глобальною проблемою [1]. В Україні спостерігається поширення мікроорганізмів, що є стійкими до хлоровмісних і альдегідовмісних дезінфектантів, деяких препаратів із груп гуанідину і четвертинних амонієвих сполук, антисептиків фурациліну і хлоргексидину [2, 3]. Повідомлялося, що недостатньо висока концентрація (0,01 %) антисептика мірамістину в деяких готових лікарсь-

ких формах не забезпечує згубної дії препаратів стосовно грамнегативних бактерій [4, 5]. Нарешті, з'явилася робота, автор якої стверджував, що препарат «Окомістин», який містить мірамістин, абсолютно не пригнічує життєдіяльність стафілококів і грамнегативних паличкоподібних бактерій [6].

Мірамістин є антисептиком, що належить до четвертинних амонієвих сполук. З 1993 р. він широко використовується в хірургії, гінекології, офтальмології та інших сферах медицини. Багатьма дослідниками було підтверджено, що мірамістин має широкий спектр протимікробної дії і високу лікувальну ефективність [5, 7]. Нам здавалося важливим з'ясувати причини розбіжностей в оцінках активності мірамістину різними авторами, оскільки вони могли ґрунтуватися як на поширенні резистентних штамів мікробів, так і на використанні некоректних методик визначення дії цього антисептика.

Завданням дослідження було встановити протимікробну активність лікарських форм мірамістину стосовно музейних і клінічних штамів мікроорганізмів за допомогою сучасної загальноприйнятої методики, що ураховує особливості механізму дії четвертинних амонієвих сполук.