

УДК 579.61

**І. В. Акуленко<sup>1</sup>, М. Ю. Корбуш<sup>1</sup>, В. О. Стецька<sup>1</sup>,  
Т. М. Сергійчук<sup>1</sup>, Г. М. Толстанова<sup>1</sup>, Н. М. Степанова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна,  
тел.: +38 (044) 239 33 33,

<sup>2</sup>Державна установа “Інститут нефрології Національної академії медичних наук  
України”, вул. Дегтярівська, 17-В, Київ, 04050, Україна,  
тел.: +38 (044) 225 93 77, e-mail: estee23@gmail.com

## **ВПЛИВ АНТИБІОТИКОТЕРАПІЇ НА ЗАГАЛЬНУ КІЛЬКІСТЬ ОКСАЛАТДЕГРАДУВАЛЬНОЇ МІКРОБІОТИ У КИШКОВОМУ ТРАКТІ ЩУРІВ**

**Мета.** Дослідити зміни загальної кількості оксалатдеградувальних бактерій за модельованого дисбіозу у щурів. **Методи.** Об'єктом дослідження були зміни загальної кількості оксалатдеградувальної мікробіоти фекального та пристінкового біоплатів товстої та тонкої кишок щурів самців лінії Wistar (маса 170-200 г, n=7). Коктейль ампіциліну (75 мг/кг) з метронідазолом (50 мг/кг) вводили per os 1 раз на добу, впродовж 3 днів. Динаміку змін мікробіоти оцінювали одразу після відміни введення антимікробних препаратів та на 18, 29, 59 день від початку експерименту. Мікробіологічний аналіз фекального (КУО/г) та пристінкового (КУО/см<sup>2</sup>) біоплатів щурів здійснювали бактеріологічним шляхом при висіві відповідних розведень на елективні середовища. Результати представлені у вигляді  $M \pm m \lg \text{ КУО/г}$  (см<sup>2</sup>). **Результати.** Кількість бактерій, що висівалася з фекального біоплату на високо селективному середовищі Oxalate Medium (5 г/л Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) знижувалася на 29-й день експерименту з  $6,22 \pm 0,20$  до  $4,37 \pm 0,80 \lg \text{ КУО/г}$  ( $P < 0,05$ ) і залишалася нижчою за показники у відповідній контрольній групі на 59-й день експерименту. Достовірне зниження кількості оксалатдеградувальної мікробіоти (з  $7,05 \pm 0,35$  до  $5,13 \pm 0,05 \lg \text{ КУО/см}^2$ ,  $P < 0,05$ ) реєстрували у пристінковому біоплаті товстої кишки на 59-й день експерименту. Проте у пристінковому біоплаті тонкої кишки їх кількість була в межах контрольних значень. Кількість анаеробних цукролітичних бактерій родів *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, що здатні метаболізувати оксалат, залишалася в межах контрольних значень у фекальному та пристінковому біоплатах товстої та тонкої кишок впродовж всього періоду спостереження після відміни антибіотиків. **Висновок.** За антибіотикоасоційованого дисбіозу відбувається зниження загальної кількості оксалатдеградувальних бактерій, що прогресує в часі і може стати причиною утворення оксалатних конкрементів.

*Ключові слова:* оксалат, оксалатдеградувальні бактерії, дисбіоз.

Останнім часом дослідники всього світу звертають увагу, що наслідки порушення мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту не обмежуються

© І. В. Акуленко, М. Ю. Корбуш, В. О. Стецька, Т. М. Сергійчук, Г. М. Толстанова, Н. М. Степанова, 2019



кишечником. Одним з органів мішеней за такої патології є нирки [3]. Розглядається патогенетичний механізм розвитку кишкових патологій та хронічних захворювань нирок, наприклад, зміни кишкової мікробіоти, модуляції імунної та запальної відповіді вітаміном Д та інші механізми [11]. Особлива увага приділяється найбільш частому нирковому ускладненню при захворюваннях кишечника – сечокам'яній хворобі. Показано, що за запальних захворювань кишечника ризик розвитку сечокам'яної хвороби зростає в 10–100 разів [7]. Відомо, що найчастіше за кишкової патології формуються оксалатні та уратні конкременти.

Щавелева кислота здатна зв'язуватись з різними катіонами (такими як натрій, магній, калій, кальцій) та утворювати оксалатні солі. Надлишок оксалатів виводиться переважно нирками і частково через травний тракт. Всмоктування оксалатів відбувається по всьому шлунково-кишковому тракту. В товстій кишці вони можуть як абсорбуватися, так і секретуватися. Проте, провідна роль відводиться тонкій кишці, де всмоктується 2–18% всього екзогенного оксалату [2].

Альтернативний шлях регуляції метаболізму оксалату полягає в його деградації за рахунок бактерій представників кишкової нормобіоти (*Oxalobacter formigenes*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* та ін.). Ці бактерії зменшують абсорбцію дієтичного оксалату і тим самим знижують ризик розвитку гіпероксалурії, і як наслідок утворення кальцій-оксалатних конкрементів [14]. Показано, що окрім безпосереднього використання оксалатів *O. formigenes* збільшує кишкову секрецію та зменшує реадсорбцію оксалатів шляхом впливу на Cl-оксалатний обмінник (SLC26A6), який розташований на клітинах кишкового епітелію [8]. Встановлено, що колонізація товстої кишки *O. formigenes* більш ніж втричі зменшує концентрацію оксалатів в плазмі крові та достовірно знижує ризик утворення оксалатних каменів. Проте, нез'ясованим залишається яким чином відбувається заселення кишечника *O. formigenes*, які фактори, крім дієтичного вживання оксалатів, впливають на його популяцію, як змінюється заселення кишечника за різних кишкових патологій [12].

На даний час недостатньо вивченим є вплив антибіотичних препаратів та інших факторів, що змінюють біоценоз кишечника на розвиток оксалатного уротіліазу. Висловлюється припущення, що менша заселеність *O. formigenes* дорослого населення України порівняно з дитячою віковою категорією пов'язана саме з частим та неконтрольованим використанням антибіотиків дорослими. Також дослідники наголошують на тому, що у людей, які приймали антибіотики реєструється менша частота виявлення *O. formigenes* і більша частота розвитку нефролітіазу.

Останні дослідження показують вплив антибіотиків на кількісні показники *O. formigenes* у шлунково-кишковому тракту дослідних тварин. Виявлено його чутливість до хінолонів, макролідів, тетрациклінів і метронідазолу [13]. Проте, інформації про вплив антибіотикотерапії на загальний рівень оксалатдеградувальних бактерій немає.

Тому, метою даного дослідження було вивчити зміни загальної кількості оксалатдеградувальних бактерій за модельованого дисбіозу у щурів.



### Матеріали і методи

Об'єктом дослідження була оксалатдеградувальна мікробіота фекального та пристінкового біоплатів товстої та тонкої кишок щурів самців лінії Wistar (розведення віварію Національного медичного університету ім. А. А. Богомольця) (маса 170–200 г, n=7). Тварин утримували в стандартних умовах віварію ННЦ «Інститут біології та медицини», на стандартному раціоні харчування з вільним доступом до води. Тварини були поділені дві групи. В дослідній групі тварин (n=4) дисбіотичні зміни моделювали шляхом сумісного внутрішньом'язового (в/м) введення ампіциліну (ПАТ «Київмедпрепарат», Україна) у дозі 75 мг/кг та метронідазолу (ТОВ «Фармацевтична фірма «Здоров'я», Україна) у дозі 50 мг/кг, які вводили перорально у вигляді коктейлю 1 раз на добу впродовж 3 днів [10]. Контрольній групі тварин (n=3) вводили в/м 0,1 мл води для ін'єкцій. Початком експерименту вважався перший день введення антимікробних препаратів або води для ін'єкцій (для контрольної групи). Мікробіоту фекального біоплату досліджували наступного дня після відміни введення антибіотиків (4-й день експерименту), а також на 18-й, 29-й та 59-й день від початку експерименту. Пристінкову мікробіоту товстої та тонкої кишок досліджували на 59-й день при виведенні тварин з експерименту. Тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації.

Для мікробіологічного аналізу було відібрано 1 г фекалій та ділянки слизової оболонки – 1 см<sup>2</sup> товстої кишки на відстані 2 см від анального отвору та 1 см<sup>2</sup> тонкої кишки на відстані 2 см від ілеоцекального клапану, які тричі промивали від хімусу у фізіологічному розчині після чого гомогенізували у гомогенізаторі Поттера. З отриманих зразків робили 10-кратні розведення у фізіологічному розчині і висівали на відповідні елективні середовища.

Для визначення кількості представників роду *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* використовували комерційні елективні середовища *Lactobacillus* MRS Agar та *Bifidobacterium* Agar виробництва HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Індія. Кількість оксалатдеградувальних бактерій визначали на високо селективному середовищі *Oxalate Medium* (г/л): K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,25, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,25, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 0,5, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O – 0,025, CH<sub>3</sub>COONa – 0,82, дріжджовий екстракт – 1,0, резазурин – 0,001, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – 4, L-цистеїн-HCl – 0,5 та Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> – 5 г. Розчин мікроелементів (Trace element solution) – 1 мл з наступним складом на л: HCl (25%; 7,7 M) – 10,00 мл, FeCl<sub>2</sub> × 4H<sub>2</sub>O – 1,50 г, ZnCl<sub>2</sub> – 70,00 мг, MnCl<sub>2</sub> × 4H<sub>2</sub>O – 100,00 мг, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – 6,00 мг, CoCl<sub>2</sub> × 6H<sub>2</sub>O – 190,00 мг, CuCl<sub>2</sub> × 2H<sub>2</sub>O – 2,00 мг, NiCl<sub>2</sub> × 6H<sub>2</sub>O – 24,00 мг, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> × 2H<sub>2</sub>O – 36,00 мг [6]. Посіви здійснювали глибинним шляхом. Культивування проводили за анаеробних умов в анаеростатах з використанням газогенеруючих пакетів (BioMerieux, Франція) при 37 °С, 5 діб. Враховували колонії, що виростили на дні/товщі чашки. Результати представлені у вигляді M±m lg КУО/г (см<sup>2</sup>).

Стійкість біфідо- та лактобактерій, виділених від щурів до ампіциліну та метронідазолу визначали диско-дифузійним методом на *Lactobacillus* MRS Agar та *Bifidobacterium* Agar (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Індія), використовуючи комерційні диски (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Індія). З добової культури бактерій готували бактеріальну суспензію у фізіологічному розчині за стандартом мутності МакФарланда 2 до концентрації 1,5×10<sup>8</sup> клітин/мл.



Отриману суспензію (0,1 мл) засівали газом на поверхню середовища й за допомогою стерильного пінцета розкладали диски з антибіотиками.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою програм «Statistica 6.0» з урахуванням перевірки показників на нормальний розподіл за тестом Колмогорова-Смірнова. Для порівняння вибірок підраховували середнє арифметичне та середнє статистичне відхилення. Достовірність різниці між порівнюваними групами оцінювали за допомогою *t* критерію Стьюдента. Статистично значущою для всіх показників вважали різницю  $P < 0,05$ .

### Результати та обговорення

В попередніх дослідженнях нами було показано, що 100% висівання оксалатдеградувальних бактерій (ОДБ) відмічається лише у шурів лінії Wistar [1], тому саме ця лінія була відібрана для дослідження змін мікробіоти шлунково-кишкового тракту за модельованого дисбіозу.

Для дослідження загальної кількості ОДБ у фекальному біоптаті проводили забір фекалій в 4-х точках впродовж 59 діб. Важливо зауважити, що у шурів контрольної групи в 3-х перших точках кількість ОДБ була стабільною і дорівнювала: на 4-у добу експерименту  $6,75 \pm 0,20 \lg \text{ КУО/г}$ ; на 18-у –  $6,52 \pm 0,39 \lg \text{ КУО/г}$ ; та на 29-у –  $6,61 \pm 0,10 \lg \text{ КУО/г}$ . Проте, на 59-й день експерименту спостерігалось підвищення на 1 порядок кількості ОДБ до  $7,80 \pm 0,45 \lg \text{ КУО/г}$  (рис. 1), але це збільшення не досягало статистично вірогідної різниці і скоріше за все могло бути пов'язано зі зміною раціону харчування тварин. В попередніх дослідженнях нами було показано індивідуальний характер між кількістю оксалатдеградувальних бактерій та раціону харчування. Середні показники вмісту оксалатдеградувальних бактерій достовірно зростали при щоденному підвищеному вмісті  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  (2 мг/кг) у раціоні харчування тварин [1].

При дослідженні впливу антимікробної композиції метронідазолу з ампіциліном на загальну кількість ОДБ у фекальному біоптаті, було продемонстровано поступове їх зниження в порівнянні з показниками в контрольній групі.

Так, на 4-й та 18-й дні від початку введення антимікробних препаратів відмічали лише тенденцію до зниження кількості ОДБ у фекальному біоптаті. На 29-ий день експерименту кількість ОДБ у дослідній групі знизилася на 2 порядки в порівнянні з показниками в контрольній групі і становила  $4,37 \pm 0,80 \lg \text{ КУО/г}$  ( $P < 0,05$ ). На 59-й день кількість ОДБ у дослідній групі становила  $6,03 \pm 0,18 \lg \text{ КУО/г}$ , що на 1,8 порядку була нижчою за показники у відповідній контрольній групі ( $P < 0,05$ ) (рис. 1).

Відомо, що у просвітному біоптаті найбільша кількість ОДБ виявляється у товстій кишці. Проте на даний момент відсутні відомості про кількісні значення ОДБ у пристінковому біоптаті товстої та тонкої кишок.

Достовірне зниження кількості ОДБ реєстрували у пристінковому біоптаті товстої кишки на 59-й день експерименту. У дослідній групі, кількість ОДБ становила  $5,13 \pm 0,05 \lg \text{ КУО/см}^2$ , тоді як в контрольній групі –  $7,05 \pm 0,35 \lg \text{ КУО/см}^2$ . Проте у пристінковому біоптаті тонкої кишки кількість ОДБ була



в межах контрольних значень, зокрема  $7,34 \pm 0,04$  lg КУО/см<sup>2</sup> в контролі та  $7,22 \pm 0,34$  lg КУО/см<sup>2</sup> в дослідній групі (рис. 2).

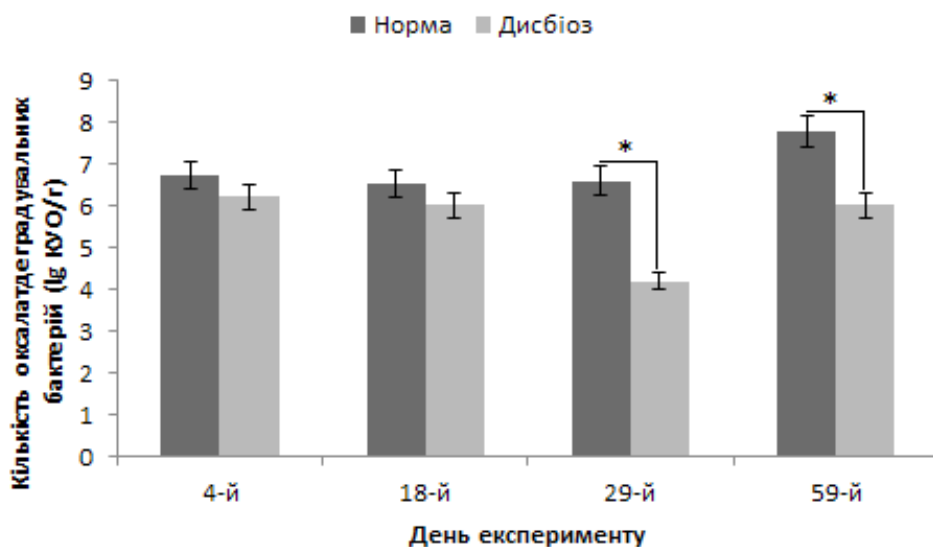


Рис. 1. Кількість оксалатдеградувальних бактерій у фекальному біоптаті щурів (n=7) в різні терміни після введення комбінації антибіотиків ампіциліну (75 мг/кг) та метронідазолу (50 мг/кг), lg (M±m) КУО/г, \*P<0,05

Fig. 1. Quantity of oxalate-degrading bacteria in the fecal biotope of rats (n=7) at different time points after administration of the combination of antibiotics ampicillin (75 mg/kg) and metronidazole (50 mg/kg), lg (M±m) CFU/g, \*P <0,05

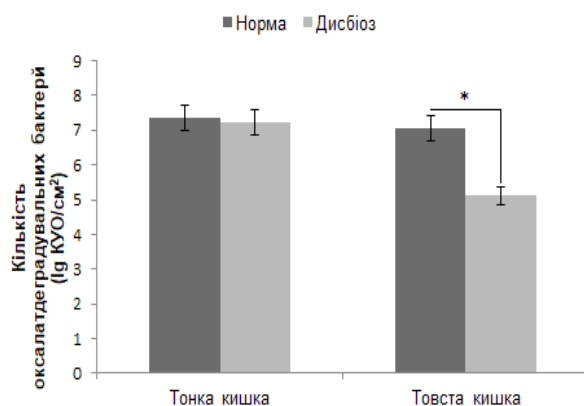


Рис. 2. Кількість оксалатдеградувальних бактерій у пристінковому біоптаті кишечника щурів (n=7) на 59-й день після відміни комбінації антибіотиків ампіциліну (75 мг/кг) та метронідазолу (50 мг/кг), lg (M±m) КУО/см<sup>2</sup>, \*P<0,05

Fig. 2. Quantity of oxalate-degrading bacteria in the mucosa-associated biotope of rats (n=7) on the 59-th day after administration of the combination of antibiotics ampicillin (75 mg/kg) and metronidazole (50 mg/kg), lg (M ± m) CFU/cm<sup>2</sup>, \*P <0,05

З літературних джерел відомо, що навіть короткотривале застосування антибіотиків призводить до виражених змін мікробіоти шлунково-кишкового тракту і має довготривалі наслідки [9], нами вперше встановлено тривалі зміни у складі ОДБ після антибіотикотерапії.

Анаеробним цукролітичним бактеріям родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* відводиться одна з провідних ролей у здатності до деградації оксалату [14]. Нами показано, що кількість бактерій родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* після сумісного введення ампіциліну та метронідазолу залишалася в межах контрольних значень у всіх досліджуваних біотопах та періодах (табл. 1, 2).

Таблиця 1

Кількісні показники ( $M \pm m$  lg КУО/г) *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* у фекальному біотопі контрольних (n=3) та дослідних (n=4) щурів після сумісного введення ампіциліну з метранідазолом

Table 1

Quantitative indices of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* ( $M \pm m$  lg CFU/g) in fecal biotope of control (n=3) and experimental (n=4) rats after administration of ampicillin with metranidazole

Рід	Контроль (n=3)				Дисбіоз (n=4)			
	4-й день	18-й день	29-й день	59-й день	4-й день	18-й день	29-й день	59-й день
<i>Bifidobacterium</i>	8,26± 0,20	8,26± 0,20	8,49± 0,57	8,37± 0,24	8,99± 0,31	9,22± 0,34	9,07± 0,38	8,65± 0,62
<i>Lactobacillus</i>	7,89± 0,24	7,31± 0,38	8,36± 0,51	7,56± 0,40	8,75± 0,06	8,20± 0,08	8,03± 0,12	7,92± 0,44

Таблиця 2

Кількісні показники ( $M \pm m$  lg КУО/см<sup>2</sup>) *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* у пристінковому біоптатах товстої та тонкої кишки щурів (n=7) після сумісного введення ампіциліну з метранідазолом

Table 2

Quantitative indices of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* ( $M \pm m$  lg CFU/cm<sup>2</sup>) in mucosa-associated biotope of rats (n=7) after administration of ampicillin with metranidazole

Пристінковий біоптат	Рід мікроорганізмів	Контроль (59-й день, n=3)	Дисбіоз (59-й день, n=4)
Товстої кишки	<i>Bifidobacterium</i>	4,23±0,75	4,05±0,25
	<i>Lactobacillus</i>	3,87±0,42	3,90±0,14
Тонкої кишки	<i>Bifidobacterium</i>	5,03±0,01	4,93±0,34
	<i>Lactobacillus</i>	5,17±0,78	5,42±0,08



При дослідженні стійкості виділених лакто- та біфідобактерій до ампіциліну та метронідазолу було виявлено, що дані бактерії стійкі до відповідних антибіотиків.

Можна припустити, що загальна кількість лакто- та біфідобактерій залишається в нормі впродовж всього часу експерименту саме за рахунок їх стійкості до використаних антибіотиків. В той час, як загальна кількість ОДБ (до яких відносяться не лише *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* та *Oxalobacter formigenes*, а також *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Providencia rettgeri*, *Eubacterium lentum* та ін. [5]) знижується впродовж експерименту. З іншого боку, ми визначали загальну кількість лакто- і біфідобактерій без видової приналежності на середовищах MRS Agar та Bifidobacterium Agar, відповідно ми не можемо виключити зменшення кількості тих видів і штамів лакто- і біфідобактерій, які здатні метаболізувати оксалат. Що підтверджується даними інших авторів [15], які показали різницю у рівні метаболічної активності по відношенню до оксалату серед різних штамів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium*.

При застосуванні комбінації антибіотичних препаратів ампіциліну та метронідазолу відбувається зменшення у кількісному складі ОДБ фекального біоптату, які набувають більш виразних змін у віддалені терміни зокрема на 29-й та 59-й дні експерименту і торкаються також пристінкового біоптату товстої кишки. При цьому загальна кількість лакто- і біфідобактерій залишається в межах контрольних показників.

Отже, отримані нами експериментальні дані свідчать про довготривалі зсуви у кількості ОДБ після антибіотикотерапії, що може мати клінічно-релеванті наслідки, зокрема розвиток гіпероксалурії з наступним утворенням оксалатних конкрементів.

**И. В. Акуленко<sup>1</sup>, М. Ю. Корбуш<sup>1</sup>, В. А. Стецька<sup>1</sup>,  
Т. М. Сергийчук<sup>1</sup>, А. Н. Толстанова<sup>1</sup>, Н. М. Степанова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,  
ул. Владимирская, 64/13, Киев, 01601, Украина, тел.: +38 (044) 239 33 33,

<sup>2</sup>Государственное учреждение “Институт нефрологии Национальной академии медицинских наук Украины”, ул. Дегтярёвская, 17-В, Киев, 04050, Украина,  
тел.: +38 (044) 225 93 77, e-mail: estee23@gmail.com

## **ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ НА ОБЩЕЕ КОЛИЧЕСТВО ОКСАЛАТДЕГРАДИРУЮЩЕЙ МИКРОБИОТЫ В КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ КРЫС**

### **Реферат**

**Цель.** Исследовать динамику изменения общего количества оксалатдеградирующих бактерий на модели дисбиоза у крыс вызванного совместным введением ампициллина и метронидозола. **Методы.** Объектом исследования были изменения общего количества оксалатдеградирующей микробиоты фекального биоптата и пристеночной микробиоты толстой и тонкой кишок самцов крыс линии Wistar (вес 170–200 г, n=7). Коктейль ампициллина (75 мг/кг) с метронидозолом (50 мг/кг) вводили per os 1 раз в сутки, в течение 3 дней. Динамику изменений микробиоты оценивали сразу после отмены



введения антимикробных препаратов, на 18, 29 и 59 день от начала эксперимента. Микробиологический анализ фекального (КОЕ/г) и пристеночного (КОЕ/см<sup>2</sup>) биоптатов крыс осуществляли бактериологическим путем при посеве соответствующих разведений на селективные среды. Результаты представлены в виде  $M \pm m \lg \text{ КУО/г (см}^2\text{)}$ . **Результаты.** Количество бактерий, которые высевались с фекального биоптата на высоко селективной среде Oxalate Medium (5 г/л  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) снижалось на 29-й день эксперимента с  $6,22 \pm 0,20$  до  $4,37 \pm 0,80 \lg \text{ КОЕ/г}$  ( $P < 0,05$ ) и оставалась ниже показателей в соответствующей контрольной группе на 59-й день эксперимента. Достоверное снижение количества оксалатдеградирующей микробиоты (с  $7,05 \pm 0,35$  до  $5,13 \pm 0,05 \lg \text{ КОЕ/см}^2$ ,  $P < 0,05$ ) регистрировали в пристеночном биоптате толстой кишки на 59-й день эксперимента. Однако в пристеночном биоптате тонкой кишки их количество было в пределах контрольных значений. Количество анаэробных сахаролитических бактерий родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, которые способны метаболизировать оксалат, оставалось в пределах контрольных значений в фекальном и пристеночном биоптатах толстой и тонкой кишок в течение всего периода наблюдения после отмены антибиотиков. **Выводы.** При антибиотикоассоциированном дисбиозе происходит снижение общего количества оксалатдеградирующих бактерий, которое прогрессирует во времени и может стать причиной образования оксалатных конкрементов.

*Ключевые слова:* оксалат, оксалатдеградирующие бактерии, дисбиоз.

I. V. Akulenko<sup>1</sup>, M. Y. Korbush<sup>1</sup>, V. O. Stetska<sup>1</sup>,  
T. M. Serhiychuk<sup>1</sup>, G. M. Tolstanova<sup>1</sup>, N. M. Stepanova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Taras Shevchenko National University of Kyiv,  
64/13, Volodymyrska str., Kyiv, 01601, Ukraine, phone: +38 (044) 239 33 33

<sup>2</sup> State Institution "Institute of Nephrology NAMS of Ukraine",  
17-V, Dehtiarivska, Kyiv, 04050, Ukraine,  
phone: +38 (044) 225 93 77, e-mail: estee23@gmail.com

## EFFECT OF ANTIBIOTICOTHERAPY ON THE TOTAL AMOUNT OF OXALATE-DEGRADING BACTERIA IN THE RATS INTESTINAL TRACT

### Summary

**Aim.** To determine the quantity of oxalate-degrading bacteria (ODB) in fecal biopsy and mucosa-associated microbiota of the colon and small intestine of rats. **Methods.** Study was conducted on male Wistar rats (weight 170–200 g, n=7). The object of the study was the change in the total amount of oxalate-degrading microbiota of the fecal and mucosa-associated biotope of the colon and small intestine. The mix of ampicillin (75 mg/kg) and metronidazole (50 mg/kg) was injected once a day, for 3 days per os. The dynamics of microbiota changes were evaluated immediately after the antibiotics withdrawals, on the 18<sup>th</sup>, 29<sup>th</sup> and 59<sup>th</sup> days of the experiment. The microbiological analysis of fecal (CFU/g) and mucosa-associated (CFU/cm<sup>2</sup>) biotope of rats was carried out bacteriologically by sowing the according dilutions on elective media. The results are presented in the form of  $M \pm m \lg \text{ CFU/g (см}^2\text{)}$ . **Results.** The number of bacteria from the fecal biopsy sowed in a highly selective Oxalate Medium (5 g/l  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) decreased





from  $6,22 \pm 0,20$  to  $4,37 \pm 0,80$  lg CFU/g ( $P < 0,05$ ) at 29<sup>th</sup> day of experiment and remained below the values in the corresponding control group on the 59<sup>th</sup> day of the experiment. A significant decline in the amount of oxalate-degrading microbiota (from  $7,05 \pm 0,35$  to  $5,13 \pm 0,05$  lg CFU/cm<sup>2</sup>,  $P < 0,05$ ) was recorded in the mucosa-associated microbiota of the colon on the 59<sup>th</sup> day of the experiment. However, in the mucosa-associated microbiota of the small intestine, their number was within the control values. The number of anaerobic saccharolytic bacteria of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* remained within the control values in the fecal and mucosa-associated biotopes of the colon and small intestine after antibiotics treatment. **Conclusion.** Progressive decrease in the total number of oxalate-degrading bacteria during antibiotic-associated dysbiosis can become the cause of oxalate concretions formation.

*Key words:* oxalate, oxalate-degrading bacteria, dysbiosis.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Акуленко І. Залежність кількісного вмісту оксалатдеградувальних бактерій у фекальному біопаті щурів від кількості оксалатів у раціоні харчування / І. Акуленко, В. Стецька, Т. Сергійчук, Г. Толстанова, Н. Степанова // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія. – 2018. – 1(75). – С. 55–58.
2. Деркач И. А. Значение кишечника в развитии уролитиаза / И. А. Деркач // «Новости медицины и фармации» гастроэнтерология. – 2015. – 527. – С. 33–37.
3. Дорофеев А. Э. Заболевание кишечника и почки / А. Э. Дорофеев, Н. Н. Руденко, И. А. Деркач, Ю. В. Чечула // Гастроэнтерология. – 2015. – 3(57). – С. 101–105.
4. Сергійчук М. Г. Цитологія мікроорганізмів – методичні рекомендації до спецпрактикуму / М. Г. Сергійчук, Т. М. Фурзікова, О. С. Радченко, Л. Г. Степура // К. – Фітосоціоцентр. – 2000.
5. Abratt V. R. Oxalate-Degrading Bacteria of the Human Gut as Probiotics in the Management of Kidney Stone Disease / Abratt V.R, Reid S.J. // Advances in Applied Microbiology. – 2010. – 72. – P. 63–87.
6. Atlas R. M. Handbook of microbiological media 4th edition / R.M. Atlas // editor: Taylor and Francis Group, LLC. – 2010. – P. 1333–1334.
7. Cirillo M. Nephrolithiasis in patients with intestinal diseases / M. Cirillo, M. Iudici, F. Marcarelli, M. Laudato, F. Zincone // Italian Nefrology. – 2008. – 25(1). – P. 42–8.
8. Hatch M. Oxalobacter sp. reduces urinary oxalate excretion by promoting enteric oxalate secretion / M. Hatch, J. Cornelius, M. Allison, H. Sidhu, A. Peck, R.W. Freel // Kidney International – 2006. – 69. – P. 691–698.
9. Jakobsson H. E. Short-Term Antibiotic Treatment Has Differing Long-Term Impacts on the Human Throat and Gut Microbiome / H. E. Jakobsson, C. Jernberg, A. F. Andersson, M. Sjölund-Karlsson, J.K. Jansson, L. Engstrand // PLoS One. – 2010. – 5(3). – e9836.
10. Ermolenko E, Ggromova L, Borscev Y, Voeikova A, Karaseva A, Ermolenko K, Gruzdkov A, Suvorov A. Influence of Different Probiotic Lactic Acid Bacteria on Microbiota and Metabolism of Rats with Dysbiosis. Bioscience of



Microbiota, Food Health. 2013;32(2);41–49.

11. *Kirylyuk K.* Discovery of new risk loci for IgA nephropathy implicates genes involved in immunity against intestinal pathogens / K. Kirylyuk, Y. Li, F. Scolari et al. // *Nature Genetics*. – 2014. – 46(11). – P. 1187–96.

12. *Knight J.* The genetic composition of *Oxalobacter formigenes* and its relationship to colonization and calcium oxalate stone disease / J. Knight, R. Deora, D.G. Assimos, R.P. Holmes // *Urolithiasis*. – 2013. – 41(3). – P. 187–196.

13. *Lange J. N.* Sensitivity of human strains of *Oxalobacter formigenes* to commonly prescribed antibiotics / Lange J. N., K. D. Wood, H. Wong, R. Otto, P. W. Mufarrij, J. Knight, H. Akpinar, R. P. Holmes, D. G. Assimos // *Urology*. – 2012. – 79(6). – P. 1286–1289.

14. *Miller A. W.* The Gastrointestinal Tract of the White-Throated Woodrat (*Neotoma albigula*) Harbors Distinct Consortia of Oxalate-Degrading Bacteria / A.W. Miller, K.D. Kohl, M.D. Dearing // *Applied and environmental microbiology*. – 2014. – 80(5). – P. 1595–1601.

15. *Mogna L.* Screening of Different Probiotic Strains for Their In Vitro Ability to Metabolise Oxalates Any Prospective Use in Humans? / L. Mogna, M. Pane, S. Nicola, E. Raiteri // *Journal of Clinical Gastroenterology*. – 2014. – 48(1). – P. 91–95.

#### Referernces

1. Akulenko I, Stetska V, Serhiychuk T, Tolstanova G, Stepanova N. Dependence of quantitative composition oxalate-degrading bacteria in fecal biopsy of rats from quantity of oxalates in ration nutrition. *Visnyk of Taras Shevchenko national university of Kyiv. Biology*. 2018;1(75);55-58 (In Ukrainian).

2. Derkach I. The value of the intestine in the development of urolithiasis. «*Novosty medytsyny y farmatsyy*» *hastroenterolohyia*. 2008;25(1);42-8 (In Russian).

3. Dorofeev AE, Rudenko NN, Derkach IA, Chechula YuV. Zabolevanie kishchechnika i pochki. *Gastroenterologiya*. 2015;3(57);101-105.

4. Sergiychuk MG, Furzikova TM, Radchenko OS, Stepura LG. Cytology of microorganisms - methodical recommendations / MG. Sergiychuk, // K. – *Fitosotsiotsentr*. – 2000 (In Ukrainian).

5. Abratt VR, Reid SJ. Oxalate-Degrading Bacteria of the Human Gut as Probiotics in the Management of Kidney Stone Disease. *Advances in Applied Microbiology*. 2010;72;63–87.

6. Atlas RM. *Handbook of microbiological media* 4th edition. Editor: Taylor and Francis Group, LLC. 2010;1333-1334.

7. Cirillo M, Iudici M, Marcarelli F, Laudato M, Zincone F. Nephrolithiasis in patients with intestinal diseases. *Italian Nefrology*. 2008;25(1);42-8.

8. Hatch M, Cornelius J, Allison M, Sidhu H, Peck A, Freel RW. *Oxalobacter sp.* reduces urinary oxalate excretion by promoting enteric oxalate secretion. *Kidney International*. 2006;69;691–698.

9. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-Term Antibiotic Treatment Has Differing Long-Term Impacts on the Human Throat and Gut Microbiome. *PLoS One*. 2010;5(3);e9836.



10. Ermolenko E, Ggromova L, Borsev Y, Voeikova A, Karaseva A, Ermolenko K, Gruzdkov A, Suvorov A. Influence of Different Probiotic Lactic Acid Bacteria on Microbiota and Metabolism of Rats with Dysbiosis. *Bioscience of Microbiota, Food Health*. 2013;32(2);41–49.

11. Kiryluk K, Li Y, Scolari F. et al. Discovery of new risk loci for IgA nephropathy implicates genes involved in immunity against intestinal pathogens. *Nature Genetics*. 2014;46(11);1187–96.

12. Knight J, Deora R, Assimos DG, Holmes RP. The genetic composition of *Oxalobacter formigenes* and its relationship to colonization and calcium oxalate stone disease. *Urolithiasis*. 2013;41(3);187–196.

13. Lange JN, Wood KD, Wong H, Otto R, Mufarrij PW, Knight J, Akpınar H, Holmes RP, Assimos DG. Sensitivity of human strains of *Oxalobacter formigenes* to commonly prescribed antibiotics. *Urology*. 2012;79(6);1286–1289.

14. Miller AW, Kohl KD, Dearing MD. The Gastrointestinal Tract of the White-Throated Woodrat (*Neotoma albigula*) Harbors Distinct Consortia of Oxalate-Degrading Bacteria. *Applied and environmental microbiology*. 2014;80(5); 1595–1601.

15. Mogna L, Pane M, Nicola S, Raiteri E. Screening of Different Probiotic Strains for Their In Vitro Ability to Metabolise Oxalates Any Prospective Use in Humans? *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2014;48(1);91–95.

Стаття надійшла до редакції 11.03.2019 р.

