

ВИКОРИСТАННЯ АНТИСЕПТИКІВ ДЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ДИСБІОТИЧНИХ ПОРУШЕНЬ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ)

²Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (м. Вінниця)

nazarchukoa@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дана робота виконана в рамках НДР «Ентеровіруси. Дисоціація: теоретичні аспекти, практичне значення. Циркуляція ентеровірусів у регіонах України. Роль в інфекційній патології людини. Удосконалення методів діагностики та профілактики ентеровірусних інфекцій», державний реєстраційний номер 0102U000200.

Вступ. Розробка ефективної моделі дисбіотичних порушень в кишківнику людини необхідна для вивчення характеру змін складу і властивостей кишкової мікрофлори, з'ясування механізму формування дисбіотичних порушень, а також для обґрунтування раціональних підходів до корекції мікроекологічних порушень. Найчастіше моделювання проводять на лабораторних тваринах, а дані, отримані в експерименті на них в подальшому екстраполюють на організм людини.

Для формування дисбіозу у тварин використовують різні підходи, проте в наш час дослідники найчастіше пропонують використовувати антибактеріальні препарати [1,2,3]. В основному методологічні особливості обмежуються вибором антибіотику. Найчастіше використовують гентаміцин, лінкоміцин, комбінації ампіциліну та лінкоміцину та деякі інші [4].

Питання моделювання дисбіозу у тварин з використанням антисептиків є принципово новим, оскільки лише останніми роками з'явилися наукові праці, в яких йдеться про ефективність використання в медичній практиці антисептиків кишкової дії. Антисептики не всмоктуються в кишечнику, створюючи високу концентрацію безпосередньо у вогнищі інфекції та не мають системної дії [5,6].

Сучасний фармацевтичний ринок насичений десятками нових протимікробних препаратів, але для поставленої мети особливу цінність набувають антисептики з широким спектром антибактеріальної та антимікотичної дії, що розкриває можливості їх багатовекторного застосування. Цим вимогам в значній мірі відповідають антисептичні лікарські засоби на основі декаметоксину (ДКМ) (Декасан®, Горостен®), які дозволені МОЗ України для профілактики і лікування інфекційних захворювань [7]. Експериментальними дослідженнями доведено їх високі протимікробні властивості щодо музейних та клінічних штамів *S. aureus*, *S. typhimurium* та інших мікроорганізмів. Ці препарати володіють вираженим механізмом протимікробної дії, оскільки мають високу поверхневу активність, миючу та емульгуючу властивості, а завдяки дифільній структурі, їх молекули здатні змінювати поверхневий натяг бактеріальних

клітин, сприяючи порушенню осмотичної рівноваги, в наслідок чого відбувається «осмотичний шок» та загибель мікроорганізмів [8].

Мета дослідження. З'ясувати можливість використання антисептичних препаратів для моделювання дисбіотичних порушень в експерименті.

Об'єкт і методи дослідження. В досліді було використано 45 мишей (по 15 у кожній групі), що розведені у віварії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Тварини утримувалися згідно з діючими «Санітарними правилами щодо устрою, обладнання та утримання експериментально-біологічних клінік (віваріїв)», на стандартному раціоні, що складався із гранульованого комбікорму для лабораторних тварин (рецепт ПКп 1-24). Доступ до води був необмежений. У контрольній групі використовували звичайну водопровідну воду. В кожній з полікарбонатних кліток розміром 325×215×85 мм з кришками з оцинкованої сталі і скляними поїлками для води утримували по 10 тварин.

Всі роботи з тваринами проводилися у відповідності до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження і у відповідності з етичними нормами і правилами роботи з лабораторними тваринами» від 21.02.2006 № 3447-IV, «European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes» та «Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes».

Методика формування дисбіотичних станів була наступною: за допомогою туберкулінового шприца з голкою із потовщенням на кінці тваринам перорально вводили ДКМ в об'ємі по 100 мкл на одну тварину на добу (першій групі – 0,01 мг, другій групі – 0,02 мг). Одночасно в поїлку з водою додавали зазначені антисептики в концентрації 0,02%. Через 24 години повторювали відбір фекалій для кількісного визначення мікрофлори і окремих її представників. Відбір матеріалу та введення тваринам розчину антисептиків повторювали протягом 5 днів, з подальшим визначенням загальної кількості фекальної мікрофлори та окремих її представників на 3, 5 добу та через 2 доби після припинення використання препарату (рис. 1, рис. 2). Антибіотики (ампіцилін та метронідазол) тваринам вводили внутрішньошлунково по 10 мг кожного препарату на тварину в день.

Результати досліджень та їх обговорення. В процесі моделювання дисбіотичних порушень у контрольній групі тварин зафіксований нормальний мікробіологічний фон (загальна кількість мікроорганізмів

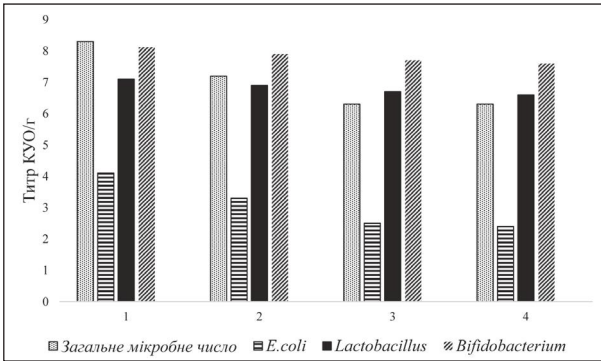


Рисунок 1 – Склад мікрофлори просвіту кишківника мишей в нормі (1) та після використання ДКМ в дозі 0,01 мг на 3 добу (2), 5 добу (3) та через 2 доби після припинення (4).

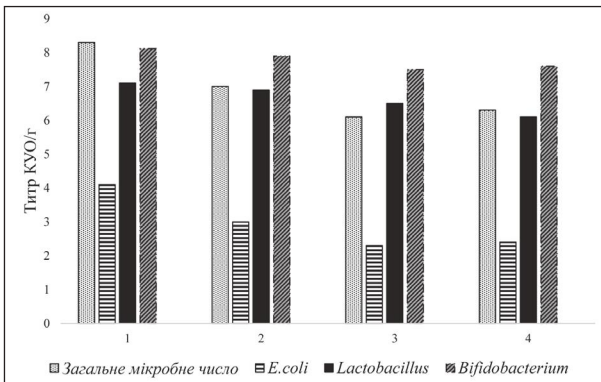


Рисунок 2 – Склад мікрофлори просвіту кишківника мишей в нормі (1) та після використання ДКМ в дозі 0,02 мг на 3 добу (2), 5 добу (3) та через 2 доби після припинення (4).

– $3,2 \times 10^8$ КУО/г, *E. coli* $2,2 \times 10^4$ КУО/г, *Lactobacillus spp.* $1,4 \times 10^7$ КУО/г, *Bifidobacterium spp.* $1,8 \times 10^8$ КУО/г). Разом з тим, за результатами бактеріологічних досліджень фекалій дослідних груп тварин встановлено, що використання ДКМ не формує виражених дисбіотичних порушень та мало впливає на основні мікробіологічні показники – маркери дисбіозу (загальну кількість мікроорганізмів, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *E. coli*) (рис. 1).

Збільшення концентрації ДКМ також не сприяє формуванню виражених дисбіотичних розладів – після 5-денного використання антисептиків у концентрації 0,02 мг зниження мікробіологічних показників було наступним: загальна кількість мікроорганізмів знизилась з $3,2 \times 10^8$ КУО/г до $1,4 \times 10^6$ КУО/г на 5 добу та до $2,8 \times 10^6$ КУО/г на 2 добу після припинення, *E. coli* – з $2,2 \times 10^4$ КУО/г до $3,5 \times 10^2$ КУО/г на 5 добу та до $4,2 \times 10^2$ КУО/г на 2 добу після припинення, *Lactobacillus spp.* – з $1,4 \times 10^7$ КУО/г до $6,4 \times 10^6$ КУО/г на 5 добу та до $1,3 \times 10^5$ КУО/г після припинення, *Bifidobacterium spp.* – з $1,8 \times 10^8$ КУО/г до $4,7 \times 10^7$ КУО/г на 5 добу та до $5,6 \times 10^7$ після припинення (рис. 2).

Важливим в цьому плані є той факт, що, не зважаючи на зниження загального мікробного числа та *E. coli*, показники *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* після використання ДКМ змінились мало. Такі результати свідчать про перспективність використання антисептичних препаратів для лікування кишкових інфекцій з позиції збереження мікробіому.

Разом з тим, орієнтуючись на наукові праці, в яких йдеться по можливість потенціювання ДКМ дії

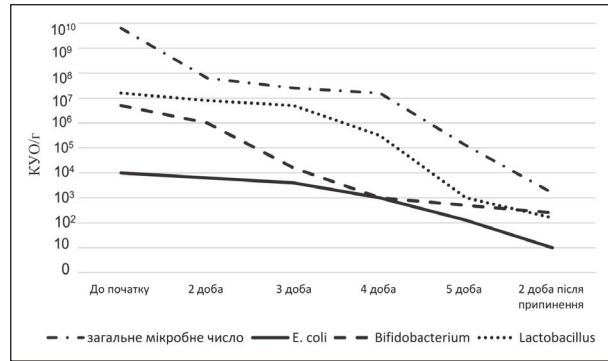


Рисунок 3 – Динаміка розвитку дисбіотичних порушень у мишей після моделювання комбінацією ампіциліну, метронідазолу та декаметоксину.

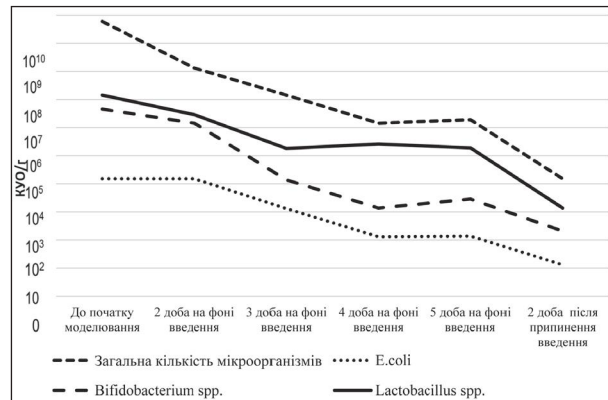


Рисунок 4 – Динаміка розвитку дисбіотичних порушень у мишей після введення комбінації ампіциліну та метронідазолу.

антибіотиків, проведено моделювання дисбіотичних порушень у мишей з використанням комбінації антибіотиків та антисептиків [9]. Антибіотики (ампіцилін та метронідазол) тваринам вводили внутрішньощлунково в концентрації та способом описаними вище, антисептик ДКМ тварини отримували в поїлці в концентрації 0,02%.

Встановлено, що присутність в поїлці ДКМ в концентрації 0,2 мг сприяла формуванню дисбіотичних порушень у мишей, очевидно, за рахунок потенціювання дії використаних в експерименті антибіотиків. На 5 добу експерименту у такій групі тварин визначили зниження усіх мікробіологічних показників, за якими оцінювали мікроекологічні порушення (загальне мікробне число, титр кишкових паличок, титр біфідобактерій та лактобацил) в порівнянні з тваринами, моделювання дисбіотичних станів на яких проводили лише з використанням антибіотиків (рис. 3).

Після п'ятиденного курсу та через два дні після припинення використання комбінації антибіотиків та антисептиків зафіксовано зниження загальної кількості мікроорганізмів до $5,4 \pm 0,2 \times 10^3$ КУО/г, *E. coli* до $1,0 \pm 0,4 \times 10^1$ КУО/г, *Bifidobacterium spp.* та *Lactobacillus spp.* до $2,2 \pm 0,4 \times 10^2$ КУО/г та $1,2 \pm 0,4 \times 10^2$ КУО/г відповідно. У порівнянні з результатами моделювання дисбіотичних станів лише антибіотиками, в даному випадку відмічали зниження показників загального мікробного числа з $1,8 \pm 0,4 \times 10^4$ КУО/г при моделюванні виключно антибіотиками, до $2,4 \pm 0,2 \times 10^3$ КУО/г при додаванні ДКМ, інші показники змінились мало. В цілому, отримані результати доводять перспектив-

ність використання досліджуваної комбінації препаратів для моделювання дисбіотичних станів (рис. 4).

Висновки. Використання антисептика ДКМ не призводить до формування виражених дисбіотичних порушень, не суттєво знижує основні мікробіологічні показники – маркери дисбіозу (загальну кількість мікроорганізмів, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *E. coli*).

Показано виражено потенціуючу дію антисептиків в процесі моделювання дисбіотичних порушень

антибактеріальними препаратами, що може вказувати на перспективність використання досліджуваної комбінації препаратів для моделювання дисбіотичних станів.

Перспективи подальших досліджень. Підтверджено перспективність подальших досліджень ефективності використання антисептичних препаратів для лікування кишкових інфекцій з позиції збереження мікробіому.

Література

1. Ermolenko EI, Donets VN, Dmitriyeva YuV, Iliasov YuYu, Suvorova MA, Gromova LV. Vliyaniye probioticheskikh enterokokkov na funktsionalnyye kharakteristiki kishkivnika kryis pri disbioze, indutsirovannom antibiotikami. Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. 2009;1:157-68. [in Russian].
2. Horokhovskiy Yelu, Hryhorova NV, Soprunova TA. Funktsionalnyi stan klityn Paneta ta morfometrychni pokaznyky kyshkovoho epiteliu v shchuriv pry syndromi nadyshkovoho bakterialnoho rostu v tonkii kyshtsi. Visnyk zaporizkoho natsionalnoho universytetu. 2012;1:91-8. [in Ukrainian].
3. Khomyakova TI, Khomyakov YuN, Kozlovskiy YuYe, Makarova OV, Ovcharova AN, Mikhaylova LP. Morfologicheskiye izmeneniya slizy obolochki tonkoy i tolstoy kishki pri pervichnom disbioze i ego korrektsiiprotiotikami. Materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii po probiotikam i prebiotikam; 2011; Slovakiya; 2011 s. 43. [in Russian].
4. Darmov IV, Chicherin IYu, Erdyakova AS, Pogorelskiy IP, Lundovskikh IA, izobretateli; FGBOU VPO «VyatGU». Sposob modelirovaniya disbakteriozu kishkivnika u laboratornykh zhivotnykh. Patent Rossiyskoy Federatsii № 2477894. 2013 Mart 20. [in Russian].
5. Derkach NM, Shtryhol Slu, Filimonova NI, Larianovska YuB, Shapoval OM, Koiro OO, vynakhidnyky; Derkach Nataliia Mykolaivna. Zastosuvannya dekametoksynu yak farmatsevtichno aktyvnoi rehovyny dlia likuvannya shlunkovo-kyshkovykh ta kyshkovykh infektsii peroralno. Patent Ukrainy № 103366. 2015 Grud 10. [in Ukrainian].
6. Derkach NM. Eksperymentalne obruntuvannya dotsilnosti zastosuvannya dekametoksynu dlia likuvannya kyshkovykh infektsii [avtoreferat dysertatsii. Kharkiv: Nats. farmatsevt. un-t; 2018. 24 s. [in Ukrainian].
7. Bobyr VV, Nazarchuk OA, Palii DV, Yatsula OV. Mikrobiolohichna, elektronno-mikroskopichna otsinka dii Dekasanu®, Horostenu® na bakterii. Lvivskiy medychniy chasopys. 2017;23(1-2):24-30. [in Ukrainian].
8. Palyi HK, Nazarchuk OA, Bobyr VV, Honchar OO, Hrydyna TL, Palyi DV, ta in. Otsinka antybakterialnykh ta protyhyrbkovykh vlastyvostei suchasnykh antyseptykiv. Mikrobiolohiia i biotekhnolohiia. 2015;4:67-74. [in Ukrainian].
9. Nazarchuk OA. Microbiological and molecular research of the resistance in gram-negative pathogens of infectious complications to carbapenem antibiotics, approaches to its combating. MJHS. 2017;13(3):22-32.

ВИКОРИСТАННЯ АНТИСЕПТИКІВ ДЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ДИСБІОТИЧНИХ ПОРУШЕНЬ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Бобир В. В., Назарчук О. А.

Резюме. У досліджах на 45 лабораторних мишах було проведено вивчення можливості використання антисептика декаметоксину (ДКМ) для експериментального моделювання дисбіотичних порушень кишечника. Визначення для кількісного і якісного визначення мікрофлори фекалій після п'ятиденного введення тваринам антисептика ДКМ засвідчило відсутність виражених дисбіотичних порушень кишечника (загальна кількість мікроорганізмів, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *E. coli*). За даними маркерів дисбіозу доведено слабкий вплив антисептика ДКМ на мікробіологічні показники кишківника. Після п'ятиденного курсу антибіотиків (ампіцилін та метронідазол) та додаткового введення ДКМ (0,2 мг) в поїлку було доведено антибіотикопотенціуючий вплив останнього, що супроводжувалось вираженими дисбіотичними порушеннями загальної кількості мікроорганізмів та їх якісного складу.

Ключові слова: антибіотики, антисептики, декаметоксин, дисбіоз.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИСЕПТИКА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДИСБИОТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Бобир В. В., Назарчук О. А.

Резюме. В опытах на 45 лабораторных мышах было проведено изучение возможности использования антисептика декаметоксина (ДКМ) для экспериментального моделирования дисбиотических нарушений кишечника. Определение для количественного и качественного определения микрофлоры фекалий после пятидневного введения животным антисептика ДКМ показало отсутствие выраженных дисбиотических нарушений кишечника (общее количество микроорганизмов, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *E. coli*). По данным маркеров дисбиоза доказано слабое влияние антисептика ДКМ на микробиологические показатели кишечника. После пятидневного курса антибиотиков (ампициллин и метронидазол) и дополнительного введения ДКМ (0,2 мг) в поилку было доказано антибиотикопотенциальное влияние последнего, что сопровождалось выраженными дисбиотическими нарушениями общего количества микроорганизмов и их качественного состава.

Ключевые слова: антибиотики, антисептики, декаметоксин, дисбиоз.

THE USE OF ANTISEPTICS FOR SIMULATION OF DYSBIOTIC DISORDERS IN THE EXPERIMENT

Bobyr V. V., Nazarchuk O. A.

Abstract. Modeling of dysbiotic disorders in the intestine is important for studying changes in the composition, properties of the intestinal microflora, and investigation of rational ways of correction of microecological disorders. Experimental dysbiosis in animals is nowadays often formed using antibacterial agents but the use of antiseptics

is fundamentally new one. The aim was to investigate the possibility of using antiseptic drugs to model dysbiotic disorders in an experiment.

The experiment was conducted on 45 mice (15 in each group), which were kept in accordance with the current "Sanitary rules for the organization, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivarium)", on a standard diet consisting of granulated compound feed for laboratory animals. Access to water was unlimited. The control group used ordinary tap water. Each of the 325×215×85 mm polycarbonate cells with galvanized steel lids and glass water bowls contained 15 animals each. All work with animals was carried out in accordance with the Law of Ukraine "On the Protection of Animals from Cruelty and in accordance with the Ethical Rules and Regulations of Laboratory Animals" of 21.02.2006 No. 3447-IV, "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes" and "Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes".

The method of formation of dysbiotic conditions was as follows: using a tuberculin syringe with needle with thickening on the end of the animals orally administered decamethoxine (DCM) in a volume of 100 µl per animal per day (the first group – 0.01 mg, the second group – 0.02 mg). At the same time, a DCM solution of 0.02% was added to the water bowl. After 24 hours, repeated collection of faeces for quantitative and qualitative determination of microflora. The introduction of the DCM antiseptic solution and material selection was repeated for 5 days, followed by determination of the total amount of fecal microflora and its individual representatives daily and 2 days after discontinuation of the drug. Antibiotics (ampicillin and metronidazole) were administered to the animals 10 mg intramuscularly per animal per day.

Normal microbial faeces composition was established in control animals. Thus, the total number of microorganisms was 3.2×10^8 CFU/g (*E. coli* – 2.2×10^4 CFU/g; *Lactobacillus spp.* – 1.4×10^7 CFU/g), *Bifidobacterium spp.* – 1.8×10^8 CFU/g). Bacteriological studies of faeces revealed the absence of pronounced dysbiotic disorders in animals using DCM. According to the markers of dysbiosis (total number of microorganisms, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *E. coli*), a weak effect of DCM antiseptic on microbiological parameters of the intestine has been shown. After 5 days of use of DCM, with increasing its concentration of significant dysbiotic disorders also was not registered. There was determined reduction of the total number of microorganisms (*E. coli*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*) to 1.4×10^6 CFU/g. The decrease in the total microbial number was not accompanied by a violation of the quantitative parameters of *Lactobacillus spp.* and *Bifidobacterium spp.* With the introduction of DCM (0.2 mg) in the drinking bowl dysbiotic disorders were observed in mice receiving antibiotics, that indicated the potentiation of activity of the second ones in the presence of antiseptic. After a five-day course and two days after discontinuation of the combination of antibiotics and antiseptics, the total microbial count was reduced to $(5.4 \pm 0.2) \times 10^3$ CFU/g.

Thus, the only use of DCM does not lead to a significant violation of the total number of microorganisms, the number of *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *E. coli*, which in turn indicates a low risk of dysbiotic disorders when using this antiseptic.

Key words: antibiotics, antiseptics, decamethoxin, dysbiosis.

Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 03.05.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-2-156-226-231

УДК 579.61

Виноградова К. О., Гаврилюк В. Г., Скляр Т. В., Соколова І. Є.

МОНІТОРИНГ ВІЯВЛЕННЯ ДИСБІОТИЧНИХ ПОРУШЕНЬ В УРОГЕНІТАЛЬНОМУ ТРАКТІ ЖІНОК ТА ЧОЛОВІКІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ КАТЕГОРІЙ

Дніпровський національний університет ім. Олеся Гончара (м. Дніпро)

kariandr98@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана в рамках ініціативної теми «Біологічні основи функціонування мікробіоценозів навколишнього середовища та організму людини», № державної реєстрації 0119U100097.

Вступ. Мікробіота є важливим регулятором всього організму людини. Її вивчення має вагомий аспект для можливості попередження інфекцій урогенітального тракту, які займають перші сходинки в структурі інших інфекційних захворювань. В епоху 21 століття однією з найважливіших медико-соціальних проблем є інфекційна патологія репродуктивної сфери. Все частіше науковці відмічають ріст дисбіотичних порушень урогенітальної системи як в жінок, так і в чоловіків. В сучасних умовах сьогодення урогенітальний дисбаланс є актуальною проблемою в науковій та лікарській практиці, з огляду на те, що не до кінця з'ясовані всі механізми розвитку дисбіотичних

станів, відсутні чіткі критерії діагностики, складнощі в підборі дієвої терапії через антибіотикорезистентність збудників. Безсимптомне носійство та брак специфічної картини запалення складають труднощі діагностики, що сприяє в свою чергу хронізації процесу, несприятливому впливу на репродуктивну функцію та зниженню якості життя. На сьогодні за даними низки дослідницьких робіт, етіологічним фактором запальних процесів виступають умовно-патогенні бактерії та гриби, які є складовими нормоценозу, за умов їх надмірного росту. Метод полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі дає змогу виявити збудників навіть за їх низької концентрації, провести етіологічну діагностику на ранніх етапах, оцінити якісно-кількісний вміст урогенітального біоценозу, контролювати якість біопроби та ефективність терапії. З усіх наявних методик найбільш повний спектр мікроорганізмів представлений у тестах «Фемоф-