

биотехнология XXI столетия". — Минск, 2002. — С. 185-186.

3. Кузнецова Л.Н. Отечественные энтомопатогенные биопрепараты на основе *Bacillus thuringiensis* // Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології. — 1999. — № 4. — С. 22-24.

4. Кандыбин Н.В. Биопестициды. Теория и практика // Защита растений. — 1991. — № 1. — С. 10-13.

5. Котов В.Б., Беляева Т.А. Состояние и тенденции развития биотехнологии за рубежом // Итоги науки и техники. — ВИНТИ. Сер. Биотехнология. — 1991. — Т. 30. — С. 1-160.

6. Закон України про пестициди і агрохімікати // Відомості Верховної Ради. — 1995. — № 14.

7. Медико-біологічні дослідж. виробничих штамів мікроорганізмів і токсиколого-гігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів (Методичні вказівки). — К.: МОЗ України, Державна санітарно-епідеміологічна служба, 2004. — 22 с.

8. Омельянец Т.Г. Влияние *Bac. thuringiensis* — действующего начала микробного инсектицида на организм животных // Микробиол. ж-л. — 1988. — Т. 50, № 5. — С. 81-83.

9. Мельникова Е.А. О патогенности *Bac. thuringiensis* и препаратов на их основе для теплокровных организмов // Энтомопатогенные бактерии и их роль в защите растений: Сб. науч. трудов. — Новосибирск, 1967. — С. 118-130.

10. Устиненко А.Н., Спруджа Д.Р. Выявление сенсibiliзирующего действия микробных препаратов при их гигиеническом нормировании // Актуал. вопросы гигиены в условиях научно-техн. прогресса: Тез. докл. V съезда гигиенистов... Узбекистана. — Ташкент, 1987, т. 1.

11. Квятковская Н.Я., Ремез Н.М., Седышева Е.П. Опыт проведения исследования по токсикологической оценке промышленных микроорганизмов с целью их гигиенического нормирования // Гигиена и санитария. — 1989. — 33. — С. 87-88.

12. Падалкин В.П., Шувалов Л.П., Голидонова Н.Д. и др. Изменение клеточной реактивности у морских свинок при сенсibiliзации *Bacillus thuringiensis* // Журнал микробиологии и иммунологии. — 1985. — № 6.

ECOLOGICAL PARITET OF GENITOURINARY TRACT MICROBIOTICENOSIS OF MICE IN CONDITION OF ANTIBIOTIC PRESSURE Voronkova O.S., Sirokvasha E.A., Polishko T.N., Vinnikov A.I.

ЕКОЛОГІЧНА РІВНОВАГА МІКРОБІОЦЕНОЗУ УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТУ МИШЕЙ В УМОВАХ НАВАНТАЖЕННЯ АНТИБІОТИКАМИ

В

**ВОРОНКОВА О.С.,
СІРКВАША О.А.,
ПОЛІШКО Т.М.,
ВІННИКОВ А.І.**

Дніпропетровський
національний університет

УДК 579.864+616.1+619

*ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ
РАВНОВЕСИЕ
МИКРОБИОЦЕНОЗА
УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА
МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ
НАГРУЗКИ АНТИБИОТИКАМИ*

**Voronkova O.S.,
Sirokvasha E.A.,
Polishko T.N.,
Vinnikov A.I.**

*В статье приведены данные
о влиянии на микрофлору
урогенитального тракта
интравагинального введения
антибиотика рокситромицина.*

*Полученные данные
указывают на роль
антибиотика как фактора
возникновения
дисбиотических явлений, что
выражается в виде снижения
частоты встречаемости
лактобацилл и увеличения
частоты встречаемости таких
условно-патогенных
микроорганизмов, как
стафилококки, энтерококки
и представители семейства
энтеробактерий.*

плив докiлля на здоров'я людини неможливо переоцiнити. Є багато факторiв, що негативно впливають на населення. В Україні ця проблема переважно стосується великих промислових мiст. Забруднення навколишнього середовища промисловими та твердими побутовими вiдходами, що накопичуються просто неба на околицях мiст, шумове забруднення, викиди автотранспорту, загальний підвищений радіаційний фон у деяких мiстах, нездоровий спiсiб життя, щоденні стресові фактори тощо — все це призводить до значного зростання рiвня захворюваностi та збiльшення частоти виникнення патологічних станiв. Значне забруднення довкiлля призводить до зростання ризику виникнення екологічно-зумовлених захворювань, до яких, насамперед, можна вiднести порушення мiкробіоценозiв вiдкритих порожнин (шлунково-кишкового тракту, урогенітальної системи тощо) [1, 4].

Слiд зазначити, що етіологічні фактори дисбіотичних явищ остаточно не визначено й донині. Серед багатьох зовнішніх факторiв, дiя яких може опосередковувати виникнення дисбіотичних явищ, є неконтрольоване застосування антибіотичних препаратiв. Доступність антибіотикiв, використання їх не лише для лікування, а i для консервування харчових продуктiв, що пропонуються на стихійних ринках, або як профілактичні засоби чи при самолікуванні зумовило значне поширення серед клінічно-значущих мiкроорганiзмiв детермінант резистентності до багатьох антибіотикiв, навіть з останніх поколінь. Окрім того, що неконтрольоване застосування антибіотикiв призводить до розвитку дисбіотичних явищ, воно може ініціювати розвиток патогенетичних процесiв [9].

Порушення мікробіоценозу урогенітального тракту (УГТ) має особливе значення, оскільки з ним напряду пов'язане репродуктивне здоров'я жінки, можливість фізіологічного перебігу вагітності та народження здорової дитини. Виношування вагітності залежить від багатьох факторів, у тому числі й від стану здоров'я матері, одним з визначальних факторів якого є стан її мікробіоценозу. Відомо, що при проходженні дитини через пологові шляхи матері відбувається її первинний контакт з бактеріями [7, 8]. При дисбіотичних станах у матері може відбутися ураження дитини умовно-патогенними бактеріями, контакт з якими у перші години життя небезпечний через можливе виникнення і розвиток імунологічної толерантності, тобто у подальшому до беззахисності дитини перед цими мікроорганізмами.

Застосування антибіотиків є необхідною процедурою у лікуванні інфекційної патології. У зв'язку з цим необхідне вивчення дії антибіотиків у модельних експериментах на тваринах для запобігання умов виникнення та можливості розвитку дисбіотичних явищ, що надасть змогу вдосконалити схеми раціональної антибіотикотерапії та зменшити ризик виникнення порушень мікробіоценозу УГТ.

Метою нашого дослідження було вивчення стану мікробіоценозу УГТ мишей при інтравагінальному введенні антибіотичного препарату реніцин, який широко застосовується у клінічній практиці.

Методи і матеріали дослідження. Для дослідів нами було обрано препарат реніцин ("лек", Словенія), діючою речовиною якого є антибіотик рокситроміцин. Вибір препарату зумовлений його використанням у реальних схемах ведення пацієнтів.

У дослідях було застосовано згаданий антибіотик у концентраціях, що відповідали максимальній (100%) та 50% і 75% від максимальної можливої дози. Вводили препарат протягом 10 діб. Максимальна добова доза для мишей становила 0,086 мг. Розраховану дозу антибіотика розчиняли у 50 мкл фізіологічного розчину та вводили інтравагінально самицям

ECOLOGICAL PARITET OF GENITOURINARY TRACT MICROBIOCENOSIS OF MICE IN CONDITION OF ANTIBIOTIC PRESSURE

Voronkova O.S., Sirokvasha E.A., Polishko T.N., Vinnikov A.I.

The data about influence of roxytromycin administration on genitourinary tract microflora are shown. These data show that preparat can play the role as inductional factor in genesis of dysbiosis. Decreasing of Lactobacillus level and increasing of conditionally-patogenous microorganisms like genus Staphylococcus, Enterococcus and family of Enterobacteriaceae were showed.

мишей. Для порівняння тваринам з контрольної групи вводили 50 мкл фізіологічного розчину.

У цій статті ми наводимо дані щодо впливу антибіотика у максимальній дозі, порівняно з контролем.

Досліди було проведено на самицях білих лабораторних мишей віком 18-20 тижнів, вагою 18-20 г, яких утримували у стандартних умовах [2]. Наведено дані з групами тварин:

□ група 1 (контроль) — тварини, яким вводили фізіологічний розчин, (n=8);

□ група 2 — тварини, яким вводили реніцин у дозі, що відповідає максимальній (100%), (n=18).

Усі дослідження на тваринах провадилися згідно з нормами, встановленими законом України № 3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження", та нормами, прийнятими в Європейській конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей" від 20.09.1985 [5].

Для вивчення якісного складу (частот зустрічності) мікроорганізмів мікрофлори урогенітального тракту мишей матеріал у тварин відбирали уніфікованим стерильним ватним тампоном і робили змив з нього в 1 мл стерильного фізіологічного розчину (масова частка натрію хлориду 0,5%). Після цього висівали 50 мкл змиву для виявлення представників родини Enterobacteriaceae на середовище Ендо; для виявлення представників роду Lactobacillus — на середовище MRS; для виявлення аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів родів Staphylococcus, Streptococcus, Bacillus, Micrococcus — на МПА; мікроорганізмів роду Enterococcus — на шоколадний агар; для визначення

мікроорганізмів роду Bacteroides — на 5% кров'яний агар; інших анаеробів (Peptococcus, Peptostreptococcus, Fusobacterium) — на середовище Кітта-Тароцці із розведення змиву 10^{-1} - 10^{-2} [10].

Ідентифікацію штамів бактерій вивчали згідно з ознаками, наведеними в "Определителе бактерий Берджи" [3]. Культивування анаеробів провадили за допомогою анаеростату, заповненого інертним газом.

Висіви робили на 1-й, 15-й та 30-й день після завершення курсу введення препарату.

Результати та їх обговорення. Отримані результати (таблиця) свідчать про те, що на 1-й день після завершення курсу введення рокситроміцину відзначено відсутність аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів (грампозитивних коків) та значне зниження частот зустрічності мікроаерофільних Lactobacillus spp. (у 3,38 рази) при збільшенні представництва родини Enterobacteriaceae spp., для яких визначене зростання частоти зустрічності (у 2,37 рази порівняно з контролем). У 11,1% тварин визначено мікроорганізми роду Bacillus spp., яких не знайдено у тварин контрольної групи.

Серед анаеробів антибіотик виявився активним переважно проти коків, але відзначено, що частота зустрічності зменшується і для інших мікроорганізмів. Так, у групі тварин, яким вводили максимальну концентрацію антибіотика, зниження частоти зустрічності відзначено для анаеробних Lactobacillus spp. (у 2,26 рази), Fusobacterium spp. (в 1,50 рази), Bacteroides spp. (в 1,21 рази). Мікроорганізми родів Peptococcus spp. та Peptostreptococcus spp. взагалі не виявлено при висіві на 1-й день після завершення курсу введення препарату.

На 15-й день спостережень відзначено зміну мікрофлори УГТ мишей. Так, відбувається відновлення аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів. У жодному з випадків не визначено наявності *Micrococcus* spp. З частотою 11,1% визначено бактерії роду *Enterococcus* spp.

Порівняно з контролем підвищені частоти зустрічності відзначено тільки для представників родини *Enterobacteriaceae* spp. (у 2,67 рази). Для інших визначених факультативно-анаеробних мікроорганізмів (окрім бацил, відсутніх у тварин контрольної групи, але виявлених у 27,8% мишей експериментальної групи) вони менші, ніж у контрольній групі.

Так, у групі тварин, яким вводили антибіотик, частоти зустрічності, порівняно з контролем, нижчі для мікроорганізмів родів *Staphylococcus* spp. (у 9 разів), *Streptococcus* spp. (в 1,64 рази), мікроаерофільних

Lactobacillus spp. (в 1,93 рази). Серед облигатно-анаеробних мікроорганізмів виявляються представники родів *Peptococcus* spp. та *Peptostreptococcus* spp., частоти зустрічності яких в 1,5 рази та у 2,82 рази нижчі, ніж у контрольній групі. Частоти виділення *Fusobacterium* spp. та *Bacteroides* spp. в 1,12 рази нижчі, ніж у контрольній групі. Частота зустрічності анаеробних *Lactobacillus* spp. залишається зменшеною, порівняно з контролем, в 1,61 рази.

На 30-й день після завершення курсу введення антибіотика відстеженням якісного складу мікробіоценозу УГТ мишей виявлено частоти зустрічності мікроорганізмів родів *Enterococcus* spp. до 50% та *Bacillus* spp. — до 25%, які взагалі не визначалися у тварин контрольної групи. Зберігається підвищеною в 2,67 рази, порівняно з нормою, частота зустрічності представників родини *Enterobacteriaceae* spp. Частота зустрічності *Staphylococcus* spp. та *Streptococcus* spp. сягнула 100%, що дорівнює показникам контрольної групи. Знизилася частота виявлення мікроаерофільних та анаеробних *Lactobacillus* spp. в 1,5 рази, порівняно з контрольною групою. Підвищилися частоти виявлення облигатно-анаеробних бактерій родів *Peptococcus* spp. в 1,33 рази, *Peptostreptococcus* spp. — в 1,07 рази, *Bacteroides* spp. — в 1,14 рази, порівняно з контролем.

Очевидною є значна дія застосованого нами препарату на якісний склад мікрофлори УГТ. Встановлено тривале пригнічення росту бактерій деяких груп (насамперед грампозитивних коків), що має назву постантибіотичний ефект. Зазвичай його визначають як тривале пригнічення росту бактерій *in vitro* при видаленні антибіотика з інкубаційного середовища. При перевищенні мінімальної пригнічувальної концентрації (МПК) деякі антибактеріальні препарати справляють навіть бактерицидну дію. У динаміці розвитку дисбіозу певну роль відіграють і захисні механізми імунітету. Так, фагоцитоз, який здійснюється деякими імуніцитами, здатний змінювати співвідношення різних родів бактерій. Антибіотики з групи макролідів здатні стимулювати фагоцитоз до повної руйнації захоплених мікроорганізмів, а також підвищувати чутливість власне мікроорганізмів до фагоцитування. Водночас у період постантибіотичного ефекту зафіксовано здатність макролідних антибіотиків знижувати адгезію бактерій до клітин епітелію, що також справляє відчутний вплив на колонізацію УГТ умовно-патогенними мікроорганізмами [6].

Для терапії інфекційних ускладнень, що виникають в УГТ, використовують препарати різних класів. Однак останні дослідження стійкості до анти-

Таблиця

Частоти зустрічності мікроорганізмів різних родів у досліді з інтравагінального введення рокситроміцину тваринам, абс/%

Мікро-організм	Факультативно-анаеробні та аеробні бактерії							Облігатно-анаеробні бактерії					
	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Enterobacteriaceae</i> spp.	<i>Fusobacterium</i> spp.	<i>Peptococcus</i> spp.	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	<i>Bacteroides</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	
Група 1 (контроль), n = 8	8/100	8/100	8/100	0/0	4/50	0/0	3/37,5	6/75	4/50	5/62,5	7/87,5	5/62,5	
Група 2	День 1, n = 18	4/22,2	0/0	0/0	0/0	0/0	2/11,1	16/88,9	9/50	0/0	0/0	13/72,2	5/27,7
	День 15, n = 18	7/38,9	2/11,1	11/61,1	2/11,1	0/0	5/27,8	18/100	12/66,7	6/33,3	4/22,2	14/77,8	7/38,9
	День 30, n = 12	6/50	12/100	12/100	6/50	3/25	3/25	12/100	9/75	8/66,7	8/66,7	12/100	5/41,7

Примітка: на 30-й день експериментальна група тварин зменшилася за чисельністю у зв'язку з тим, що 6 тварин було декапітовано з метою отримання крові для дослідження деяких параметрів імунітету.

біотиків різних клінічних штамів вказують на те, що більшість антибіотиків перших поколінь вже не є ефективною проти збудників, які набули множинної резистентності. Водночас нераціональне використання нових, більш ефективних антибіотиків може призвести до появи стійкості і до них, що загрожує поширенням резистентності також і серед мікроорганізмів інших груп [7, 8]. Тому при розробці методів раціональної антибіотикотерапії для боротьби зі збудниками інфекційних захворювань, стійких до дії антибіотиків, слід використовувати препарати різних груп та поколінь з урахуванням механізмів їхньої дії та ефективності саме проти виділених від пацієнтів штамів.

Висновки

У наших дослідженнях визначено, що інтравагінальне введення рокситроміцину, який належить до макролідних антибіотиків, призводить до розвитку дисбіотичних явищ в УГТ мишей у вигляді зниження частоти зустрічності лактобацил за високих частот зустрічності мікроорганізмів — представників умовно-патогенної флори.

Встановлено, що дисбіоз є динамічним станом. Відстеження дисбіотичної картини в УГТ у певні дні (1-й, 15-й та 30-й після завершення курсу введення препарату) протягом місяця дозволило визначити зміни у стані мікробіоценозу УГТ, які відповідають загальним ознакам дисбіотичних явищ та водночас відрізняються. Так, на 1-й день після зняття дії рокситроміцину відзначено зменшення частоти зустрічності мікроорганізмів роду *Lactobacillus* spp. та відсутність мікроорганізмів таких родів: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Peptococcus* spp. та *Peptostreptococcus* spp. Натомість збільшується частота зустрічності грамнегативної флори (серед факультативних анаеробів це представники родини *Enterobacteriaceae* spp., частота зустрічності яких у контрольній групі становить 37,5% проти 88,9% в експериментальній групі).

Із зростанням тривалості експерименту (на 15-ту добу) відзначається часткове повнення мікрофлори УГТ, що

виражається у визначенні зростання частот зустрічності мікроорганізмів родів *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Peptococcus* spp. та *Peptostreptococcus* spp. при 100% частоті виявлення представників родини *Enterobacteriaceae* spp.

На 30-й день після завершення курсу антибіотика відзначається зменшення частоти зустрічності мікроаерофільних та анаеробних *Lactobacillus* spp. в 1,5 рази, порівняно з контролем; збільшення, порівняно з 1-им та 15-им днем, частоти зустрічності мікроорганізмів родів *Staphylococcus* spp. та *Streptococcus* spp. до 100%; збереження 100% частоти виявлення представників родини *Enterobacteriaceae* spp., що у 2,67 рази більше, ніж у контрольній групі; поява представників роду *Enterococcus* spp. з частотою виявлення 50%; збільшення частоти виявлення у представників роду *Peptococcus* spp. в 1,33 рази, порівняно з контролем.

Тобто маємо констатувати, що дисбіоз не є сталим явищем. З часом зберігаються лише головні тенденції — доминування частоти зустрічності умовно-патогенних мікроорганізмів при зниженні частоти зустрічності *Lactobacillus* spp. Слід відзначити, що відбувається зміна співвідношень представників різних родів мікроорганізмів, які входять до складу мікробіоценозу УГТ мишей. Все це свідчить на користь необхідності постійного відстеження змін характеристик дисбіозу, а не лише констатації його як факту.

Так, макролідні антибіотики і безпосередньо рокситроміцин слід застосовувати за обов'язкового контролю стану мікробіоценозу УГТ та за необхідності — паралельної корекції стану мікробіоценозу пробіотичними та іншими лікувальними препаратами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Деркачев Э.А., Штепа А.П. Качество жизни населения. Актуальные эколого-гигиенические проблемы охраны окружающей среды и здоровья населения Приднепровья: состояние, прогноз и пути решения // Экополис. — 2004. — № 1 (13). — С. 23-27.
2. Лабораторные животные: разведение, содержание, ис-

пользование в эксперименте / Под ред. И.П. Западнюка и соавт. — К.: Вища школа, 1983. — 383 с.

3. Определитель бактерий Берджи: Пер. с англ. / Под ред. Хоулта Дж., Криля Н., Синта П. и др. в 2-х т. — М.: Мир, 1997. — Т. 1 — 430 с.; Т. 2 — 368 с.

4. Переметчик М.М. Місто Дніпропетровськ та екологічна ситуація у Дніпропетровській області: інформація // Экополис. — 2002-2003. — № 1 (11), № 1 (12). — С. 30-31.

5. Резніков О. Проблеми етики при проведенні експериментальних медичних і біологічних досліджень на тваринах // Вісник НАНУ. — 2001. — № 1. — С. 5-7.

6. Самсыгина Г.А. Макролиды и фагоцитоз // Антибиотики и химиотерапия. — 1999. — № 2. — С. 33-36.

7. Стречунский Л.С. и др. Антибактериальная терапия уроинфекций у беременных: компромисс между активностью, эффективностью и безопасностью антибиотика // Акушерство и гинекология. — 2005. — № 2. — С. 16-20.

8. Чилова Р.А. и др. Антимикробная терапия инфекций мочевых путей у беременных: многоцентровое фармакоэпидемиологическое исследование // Журнал акушерства и женских болезней. — 2006. — № 1. — С. 38-43.

9. Яковлев С.В. Микробиологические и фармакодинамические факторы, определяющие клинический эффект антибиотикотерапии // Антибиотики и химиотерапия. — 1999. — № 5. — С. 3-5.

10. Samuel Baron M.D., Rhonda C. Peake, Deborah A. James, Mardelle Susman, Carol Ann Kennedy, Mary Jo Durson Singleton, Steve Schuenke Medical microbiology Galveston. — The Texas University Print, 1996. — 606 P.