

УДК 616.341/.345-008.87-08:615.332

СТУПІНЬ ВПЛИВУ ТЕТРАЦИКЛІНУ НА МІКРОБІОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ ПРЕПАРАТОМ «БІФІФОРМ – 21»

Голяр О.І., Сидорчук І.Й.

Буковинський державний медичний університет,
м. Чернівці

Накопичений у нашій країні та у всьому світі величезний досвід використання антибіотиків, дозволив переглянути основні принципи і концепцію їх призначення, щоб найбільш ефективно використовувати різні групи антибіотиків і, разом з тим, попередити або ж максимально знизити рівень побічних явищ та ускладнень різного ступеня тяжкості. Визначення оптимальних доз антибіотика в етіотропній терапії являється надзвичайною і вирішальною умовою успішного лікування бактеріальних інфекційних захворювань [1, 2]. Неефективність етіотропної антибіотикотерапії може бути пов'язана з нераціональним підбором лікувальних доз. Малі дози часто не забезпечують терапевтичної концентрації у крові і тканинах, призводять до відсутності успіху в лікуванні, рецидиву захворювання або переходу його у хронічну форму, а також до формування антибіотикорезистентності збудника [3]. Характерним прикладом такої помилки являється призначення дорослому пацієнту тетрациклінів у разовій дозі 10 мг/кг і менше. Тоді як середня терапевтична доза складає 20 мг/кг [4].

Використання антибіотиків у лікувальній практиці у ряді випадків супроводжується розвитком небажаних ускладнень, явищ, реакцій, небезпечних для життя пацієнта. В останні роки цій проблемі надається виключне значення як у вітчизняних так і в зарубіжних публікаціях. Багаторічний досвід використання антибіотиків дозволяє зробити об'єктивний аналіз та узагальнення їх застосування і сформулювати основні фундаментальні концепції з характеристики побічних реакцій і процесів [5]. У більшості випадків етіотропна антибіотикотерапія супроводжується формуванням різного ступеня кишкового дисбактеріозу/дисбіозу. Сформований під впливом різних факторів, у першу чергу від використання антибіотиків, дисбактеріоз/дисбіоз кишечника з трудом піддається корекції, що значно ускладнює перебіг основного захворювання [6, 7].

Разом з тим, не встановлені механізми порушень мікробіоми при антибіотикотерапії в

залежності від дози і терміну використання антибіотиків широкого спектру дії, а також не розроблені принципи використання пробіотиків після примінення антимікробних препаратів у залежності від їх дози [8, 9]. Все перераховане потребує експериментальних досліджень, направлених на встановлення порушень видового складу і популяційного рівня мікробіоми під впливом різних доз антибіотиків широкого спектру дії, терміну використання з врахуванням біоритмів функції системи імунітету, а також методи аплікації пре- і пробіотиків для корекції порушеного якісного і кількісного складу мікробіоми біотопу [9 – 11].

Матеріал і методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені на 70 білих безпородних щурах масою 180 – 220 гр. Тварин було отримано із віварію Буковинського державного медичного університету, їх утримували в стандартних умовах на стандартному раціоні харчування і брали в дослід після 2 – тижневого карантину при відсутності жодних ознак захворювання. Маніпуляції з ними проводилися відповідно до Закону України № 3447-IV і Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для наукових та інших цілей.

Вплив різних доз тетрацикліну на мікробіоту товстої та дистального відділу тонкої кишки вивчали шляхом щоденного перорального введення металічним зондом безпосередньо в шлунок протягом 5 днів білим щурам в об'ємі не більше 1 мл розчину тетрацикліну із розрахунку середньої (20 мг/кг) та максимальної (50 мг/кг) терапевтичної дози. Контрольним тваринам протягом 5 – ти днів щоденно вводили у шлунок 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію.

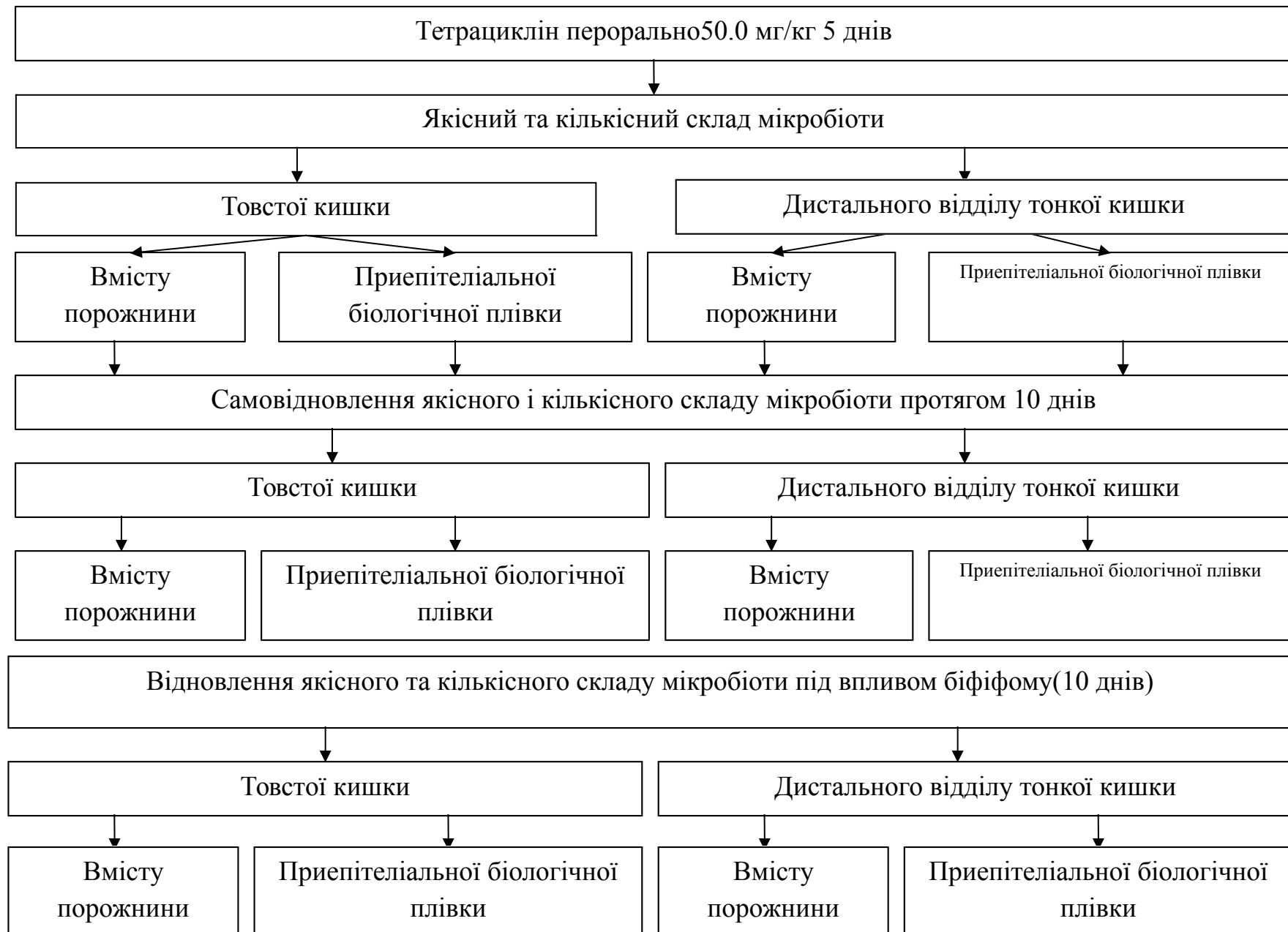
Процес самовідновлення проводився шляхом утримання тварин у стандартних умовах віварію впродовж 10 днів після завершення введення різних доз тетрацикліну.

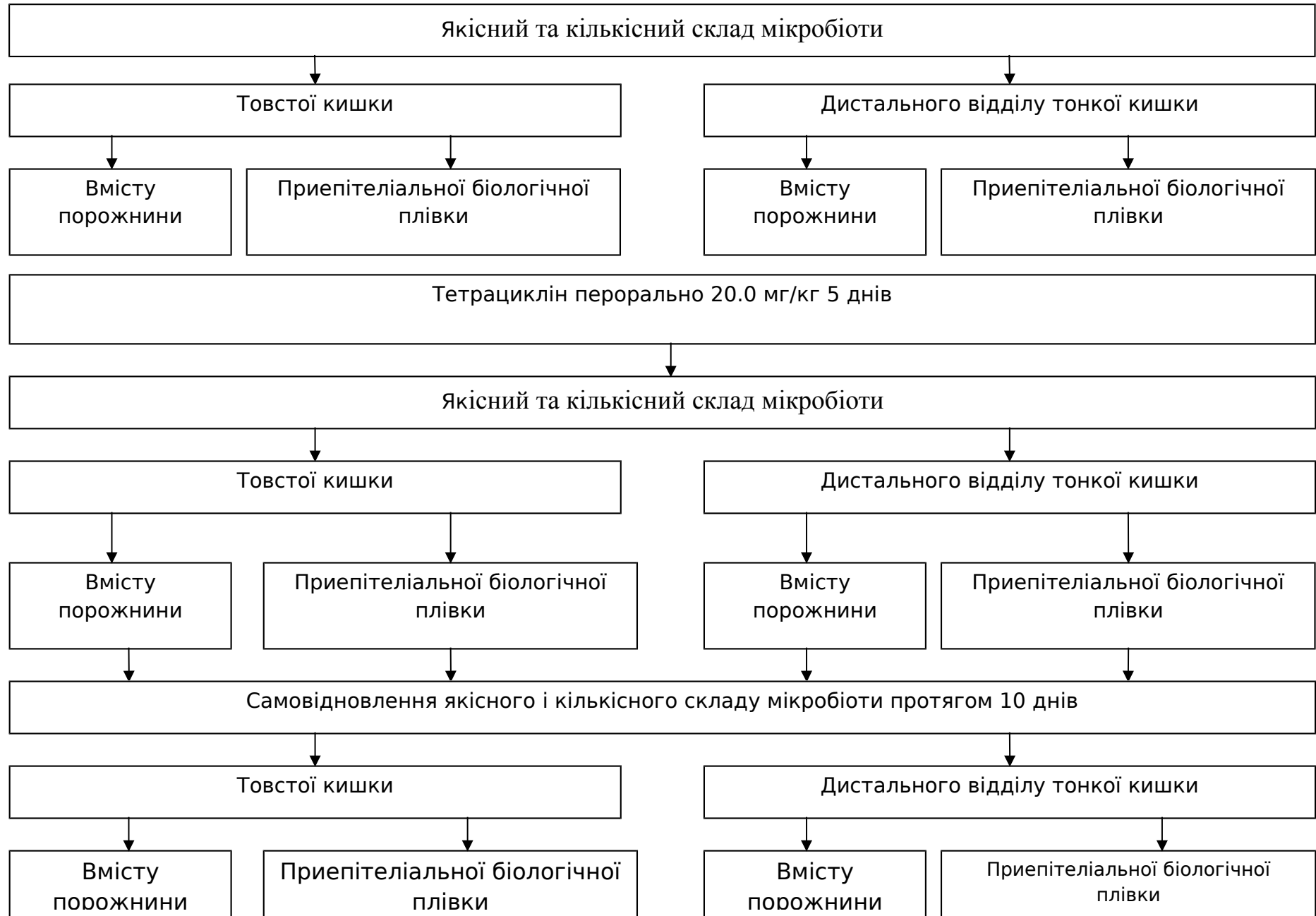
Видовий склад і популяційний рівень мікробіоми різних біотопів вивчали мікробіологічним і мікологічним методом І.Й.Сидорчук, О.І.Голяр (2009 – 2010), [12 – 14].

Загальна схема бактеріологічних і мікологічних досліджень наведена на рисунку.

Ступінь кишкового дисбактеріозу/дисбіозу визначали за рекомендаціями Бондаренко В.М., Воробійов А.А. (2004), [15].

Статистичну обробку виконували за допомогою спеціальної комп'ютерної програми для статистичних обрахунків PAST (version 1.84, freeware, Oyvind Hammer, D.A.T. Harper, 2008) [M 300] – на персональному комп'ютер





Результати та обговорення

Першим етапом досліджень було вивчення видового складу і популяційного рівня порожнинної і мукозної мікробіоти товстої і дистального відділу тонкої кишки.

Одержані результати вивчення впливу різних (середньої (20 мг/кг) та максимальної (50 мг/кг)) терапевтичних доз тетрацикліну гідрохлориду на видовий склад (якісний) та популяційний (кількісний) рівень автохтонних облігатних

анаеробних бактерій роду Bifidobacterium, Lactobacillus, Peptostreptococcus, Eubacterium, Bacteroides та факультативних анаеробних бактерій роду Enterococcus, а також визначений якісний та кількісний склад факультативних анаеробних та аеробних ентеробактерій (бактерій роду Escherichia, Proteus, Klebsiella, Edwardsiella, Pantotea, Staphylococcus та ін.) порожнини та приєпітеліальної біологічної плівки товстої та дистального відділу тонкої кишки наведені у (табл. 1 – 2).

Таблиця 1 - Вплив середньотерапевтичної (20мг/кг) дози тетрацикліну на популяційний рівень мікрофлори порожнини товстої кишки інтактних білих щурів

Мікроорганізми	Основна група (n=10)			Контрольна група (n=10)			p
	ПР (в lg КУО)	ККД	КЗ	ПР (в lg КУО)	ККД	КЗ	
I. Облігатні анаеробні бактерії.							
Біфідобактерії	5,44±0,17	29,01	0,04	9,54±0,33	150,2	0,17	<0,001
Лактобактерії	5,45±0,20	50,87	0,06	8,63±0,23	135,91	0,15	<0,001
Еубактерії	5,66±0,10	22,64	0,02	6,98±0,21	65,95	0,08	<0,001
Бактероїди	8,85±0,23	118,03	0,13	6,73±0,27	105,98	0,12	<0,001
Пептострептококи	6,30	8,40	0,01	6,50±0,19	61,42	0,07	>0,05
Пептокок	8,52±0,50	68,16	0,08	5,03±0,18	15,84	0,02	<0,001
Бактерії роду Clostridium	8,81±0,15	58,73	0,07	4,66±0,10	22,02	0,02	<0,001
II. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії.							
Кишкова паличка	9,01±0,21	120,13	0,13	8,07±0,28	127,09	0,14	<0,05
E.coli Нly+	8,99±0,32	71,92	0,08	0	-	-	-
Бактерії роду Proteus	4,30±0,34	57,33	0,06	3,28±0,18	36,16	0,04	<0,05
Бактерії роду Edwardsiella	8,84±0,20	58,93	0,07	3,84±0,08	18,14	0,02	<0,001
Бактерії роду Pantotea	8,89±0,09	71,12	0,08	3,66±0,31	17,29	0,02	<0,001
Бактерії роду Klebsiella	8,79±0,20	35,16	0,04	3,69±0,13	11,62	0,01	<0,001
Ентерококи	7,72±0,10	30,88	0,03	8,87±0,32	97,78	0,11	<0,05
Стафілококи	5,87±0,20	39,13	0,05	-	-	-	-
Сінна паличка	8,61±0,40	34,44	0,03	9,37±0,41	132,80	0,16	>0,05

Примітка: ККД – коефіцієнт кількісного домінування; ПР – популяційний рівень в lg КУО; КЗ – коефіцієнт значущості; p – величина достовірності.

Таблиця 2 - Вплив середньотерапевтичної дози (20мг/кг) тетрацикліну на популяційний рівень мікробіоти приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої кишки експериментальних білих щурів

Мікроорганізми	Основна група (n=10)			Контрольна група (n=10)			p
	ПР	ККД	КЗ	ПР	ККД	КЗ	
I. Облігатні анаеробні бактерії.							
Біфідобактерії	-	-	-	6,23±0,21	123,12	0,20	-
Лактобактерії	3,46±0,22	45,29	0,08	5,44±0,14	107,51	0,17	<0,01
Еубактерії	-	-	-	3,76±0,27	44,58	0,07	-
Бактероїди	5,14±0,30	134,55	0,26	4,98±0,38	98,42	0,16	>0,05
Пептокок	3,18±0,17	52,09	0,09	-	-	-	-
Пептострептококи	-	-	-	4,87±0,38	48,12	0,08	-
Клостридії	3,16±0,16	41,47	0,07	-	-	-	-
II. Факультативно анаеробні та аеробні бактерії.							
Кишкова паличка	3,80±0,30	99,48	0,19	3,72±0,31	73,52	0,12	>0,05
Протеї	3,33±0,37	26,15	0,05	-	-	-	-
Ервінії	3,50±0,17	23,56	0,05	-	-	-	-
Едвардсієли	3,72±0,10	29,21	0,06	-	-	-	-
Клебсієли	3,56±0,24	27,96	0,06	-	-	-	-

Псевдомонади	3,78	9,90	0,01	-	-	-	-
Ентерококи	-	-	-	6,45±0,42	127,47	0,20	-
Стафілококи	3,76±0,25	68,90	0,13	-	-	-	-

Примітка: ККД – коефіцієнт кількісного домінування; ПР – популяційний рівень в Іг КУО; КЗ – коефіцієнт значущості; р – величина достовірності.

Тетрацикліну гідрохлорид у дозі 20мг/кг (терапевтична доза) введений протягом 5 днів безпосередньо в шлунок інтактним білим щурам призводить до незначних змін видового складу та глибоких порушень популяційного рівня мікробіоти порожнини товстої кишки, за рахунок зниження кількісного складу автохтонних облігатних анаеробних біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій ($p < 0,001$) та суттєвого ($p < 0,001 - < 0,05$) зростання популяційного рівня факультативних бактероїдів, пептокока, кластридій, ентеробактерій (едвардсіел, пантотей, клібсіел, протеїв).

Вказана доза тетрацикліну гідрохлориду призводить до послаблення колонізаційної резистентності слизової оболонки товстої кишки за рахунок глибоких змін видового складу мікробіоти приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки цього біотопу. При цьому настає елімінація біфідобактерій, еубактерій, ентерококів, пептострептококів та колонізація слизової оболонки товстої кишки умовно патогенними ентеробактеріями (едвардсієлами, клібсієлами, пантотєями, протеєями), стафілококами, пептококом, кластридіями та псевдомонадами.

Середньотерапевтична доза тетрацикліну гідрохлориду в інтактних тварин через 5 днів введення призводить до суттєвого ($p < 0,01$) зниження кількості лактобактерій та зростання популяційного рівня ентеробактерій, а також бактероїдів і кишкової палички.

Особливе значення у формуванні інфекційного процесу має дистальний відділ тонкої кишки, який характеризується значною васкуляризацією та локалізацією лімфоїдних скупчень, асоційованих із слизовою оболонкою, поверхня якої у цьому відділі найбільш здатна щодо резорбції антигенів (мікроорганізмів) ніж в інших відділів кишечника. Це надає їй схильності до контакту з мікроорганізмами, антибіотиками та з різними хімічними сполуками. Для лікування гострих інфекційних кишкових захворювань використовується етіотропна антибіотикотерапія, яка негативно впливає на індигенну мікробіому кишечника, формується дисбактеріоз/дисбіоз.

Тетрациклін у дозі 20 мг/кг, введений безпосередньо у шлунок металевим зондом протягом 5 днів призводить до суттєвого зниження (дефіциту) автохтонних облігатних анаеробних біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій, бактероїдів; елімінації пептострептококів, ентерококів та транзиторних грампозитивних аеробних стрептобацил, а також до значного зростання кількості та аналітичних показників патогенних (ентеротоксигенних ешерихій) та умовно патогенних (клібсіел, едвардсіел, пантотей, протеїв) ентеробактерій, стафілококів, пептокока та кластридій.

Гармонійна діяльність макроорганізму та його індигенної мікрофлори здійснюється за рахунок сформованої приєпітеліальної біологічної плівки

слизової оболонки, оскільки вона є основним резервуаром ендогенної мікрофлори в організмі людини (хазяїна). Ця система регуляції проявляється тільки за умов досягнення високої кількості клітин бактеріальної популяції одержала назву «quorum sensing». Тому вивчення мікрофлори приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки дистального відділу тонкої кишки в експериментальних тварин під впливом середніх доз тетрацикліну має не тільки практичне значення, а також і фундаментальний напрям.

Колонізаційна резистентність слизової оболонки дистального відділу тонкої кишки під впливом середніх доз тетрацикліну зазнає глибоких змін, які характеризуються змінами якісних та кількісних взаємовідношень, при цьому виявляється виражений дефіцит автохтонних облігатних біфідобактерій, лактобактерій, ентерококів, пептострептококів та контамінація приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки патогенними та умовно патогенними ентеробактеріями, стафілококами, пептококом та кластридіями, які досягають у цьому біотопі високого популяційного рівня, коефіцієнта кількісного домінування та значущості.

Таким чином, середньотерапевтичні дози тетрацикліну гідрохлориду (20 мг/кг) при пероральному введенні інтактним білим щурам протягом 5 днів призводять до елімінації із порожнини дистального відділу тонкої кишки ентерококів, сінної палички, пептострептококів, у частини тварин – біфідобактерій та лактобактерій. Під впливом цієї дози настає потужна контамінація порожнини дистального відділу тонкої кишки патогенними (ентеротоксигенними ешерихіями) та умовно патогенними (протеєями, клібсієлами, пантотєями, едвардсієлами) ентеробактеріями, стафілококами та бактеріями роду Clostridium. В результаті чого в порожнині цього відділу тонкої кишки створюється виражений дефіцит автохтонних облігатних анаеробних біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій, а також ентерококів, пептострептококів. На цьому фоні значно зростає популяційний рівень патогенних та умовно патогенних ентеробактерій, стафілококів та кластридій.

Використання середніх терапевтичних доз тетрацикліну гідрохлориду не впливає на якісні та кількісні показники бактероїдів, еубактерій, але зростає кількість кишкових паличок.

Не дивлячись на часте використання антибіотиків тетрациклінового ряду і в теперішній час, вплив цих препаратів на нормальну мікрофлору кишечника не вивчався. У попередніх дослідженнях нами вивчені особливості впливу на порожнину і мукозну мікробіоту товстої і дистального відділу тонкої кишки середньотерапевтичної дози (20мг/кг) тетрацикліну гідрохлориду. Залишається не вивченою побічна дія цього антибіотика при

використанні максимальної терапевтичної дози – 50 мг/кг.

Тетрациклін у дозі 50,0мг/кг призводить до стерилізуючого ефекту мікрофлори порожнини товстої кишки в результаті чого настає елімінація із порожнини товстої кишки в першу чергу автохтонних облигатних анаеробних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, аеробних бактерій роду *Enterococcus*, *B. Subtilis* та окремих видів ентеробактерій (*Edwardsiella*, *Pantotea*), значно знижується популяційний рівень бактерій роду *Escherichia*, *Eubacterium*. На цьому фоні зростає популяційний рівень, коефіцієнт кількісного домінування та коефіцієнт значущості у бактерій роду *Peptococcus*, *Clostridium*, *Klebsiella*.

Максимальна терапевтична доза (50,0мг/кг) тетрацикліну гідрохлориду введена безпосередньо в шлунок протягом 5 днів, призводить до вираженого дисбалансу мікрофлори приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки товстої кишки, який характеризується стерилізуючим ефектом антибіотика стосовно автохтонних облигатних анаеробних, факультативних анаеробних та аеробних бактерій. У приєпітеліальній біоплівці слизової оболонки товстої кишки залишаються тільки бактероїди у мінімальних кількостях та умовно патогенні ентеробактерії (клебсієли, пантотеї), пептокок та клостридії, які контамінують слизову оболонку товстої кишки і досягають мінімального популяційного рівня.

Таким чином, максимальна терапевтична доза (50,0мг/кг) тетрацикліну гідрохлориду, введена металевим зондом безпосередньо в шлунок білим шуром протягом 5 днів, призводить до елімінації із порожнини товстої кишки автохтонних облигатних анаеробних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus* та факультативних анаеробних та аеробних – *Enterococcus*, *B. subtilis* (транзиторийний мікроорганізм) та контамінації порожнини товстої кишки патогенними (ентеротоксигенними ешерихіями) та умовно патогенними (клебсієлами) ентеробактеріями, пептококом та клостридіями. Останні мікроорганізми досягають високого популяційного рівня. Така доза призводить до стерилізуючого ефекту у вмісті порожнини товстої кишки експериментальних тварин.

Мікробіома приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки товстої кишки експериментальних тварин піддається стерилізуючому ефекту – змінам якісного та кількісного складу під впливом тетрацикліну, введеного ентеральним шляхом. При цьому настає елімінація із слизової оболонки біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій, пептострептококів, ентерококів та кишкової палички, а також знижується популяційний рівень, коефіцієнт кількісного домінування та коефіцієнт значущості у бактероїдів; настає контамінація слизової оболонки товстої кишки експериментальних тварин ентеробактеріями (клебсієлами, пантотеями), пептококом та бактеріями роду *Clostridium*.

Максимальна терапевтична доза (50,0 мг/кг) тетрацикліну гідрохлориду проявляє стерилізуючий ефект як вмісту, так і приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки товстої кишки інтактних білих щурів. Особливо глибокі зміни (стерилізація) спостерігаються на слизовій оболонці товстої кишки, що призводить до відсутності колонізаційної резистентності слизової оболонки і вона може стати вхідними воротами для проникнення умовно патогенних бактерій через стінку товстої кишки у кров та внутрішні органи.

Тетрацикліни близькі за хімічною структурою та біологічними властивостями, характеризуються загальним спектром і механізмом антимікробної дії, повною перехресною резистентністю, близькими фармакологічними та фармакокінетичними характеристиками. Тому вивчення впливу тетрацикліну на мікробіоту дистального відділу тонкої кишки вирішує характеристику цілої групи антибіотиків та побічну дію цих антимікробних препаратів, які використовуються у різних (середніх та максимальних) терапевтичних дозах.

Мікробіота будь – якого біотопу характеризується якісним та кількісним складом. Першим етапом вивчення впливу максимальної терапевтичної дози (50,0мг/кг) тетрацикліну було встановлення якісного (видового) і кількісного складу мікрофлори порожнини дистального відділу тонкої кишки інтактних білих щурів, під впливом максимальної терапевтичної дози тетрацикліну (див. табл. 3).

Таблиця 3 - Вплив тетрацикліну у дозі 50,0мг/кг на популяційний рівень мікробіоти порожнини дистального відділу тонкої кишки у білих щурів

Мікроорганізми	Основна група (n=10)			Контрольна група (n=10)			p
	ПР	ККД	КЗ	ПР	ККД	КЗ	
I. Облігатні анаеробні бактерії.							
Біфідобактерії	-	-	-	6,71±0,23	74,56	0,11	-
Лактобактерії	-	-	-	5,78±0,35	85,63	0,13	-
Еубактерії	3,85±0,19	39,39	0,10	5,97±0,19	33,17	0,04	<0,01
Бактероїди	3,82±0,16	78,16	0,20	6,26±0,10	115,93	0,17	<0,001
Пептокок	4,40±0,43	45,01	0,11	-	-	-	-
Пептострептококи	-	-	-	5,81±0,15	53,80	0,08	-

Клостридії	4,38±0,38	44,02	0,11	-	-	-	-
II. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії.							
Кишкова паличка	3,83±0,26	58,77	0,15	3,09±0,14	57,22	0,09	<0,05
E.coli Нly+	3,90±0,26	49,87	0,12	-	-	-	-
Протеї	3,66±0,37	28,08	0,07	3,57±0,33	46,8	0,07	>0,05
Пантотеї	3,54±0,34	18,12	0,05	5,78	10,70	0,01	-
Едвардсієли	-	-	-	5,78	10,70	0,01	-
Клебсієли	3,77±0,11	48,21	0,12	-	-	-	-
Ентерококи	-	-	-	6,01±0,16	84,26	0,11	-
Стафілококи	-	-	-	3,78	7,00	0,01	-
Сінна паличка	-	-	-	6,29±0,18	93,19	0,14	-

Примітка: ККД – коефіцієнт кількісного домінування; ПР – популяційний рівень в lg КУО; КЗ – коефіцієнт значущості; р – величина достовірності.

Тетрациклін гідрохлорид у максимальній терапевтичній дозі (50,0мг/кг), введений металічним спеціальним зондом безпосередньо у шлунок експериментальним білим щурам протягом 5 днів призводить до помірного стерилізуючого ефекту мікрофлори порожнини дистального відділу тонкої кишки за рахунок елімінації із цього біотопу представників головної мікрофлори автохтонних облигатних анаеробних бифідобактерій, лактобактерій, пептострептококів, факультативних анаеробних та аеробних ентерококів та транзиторних грампозитивних стрептобацил; зниження популяційного рівня бактероїдів, кишкових паличок.

Основним джерелом мікрофлори порожнини дистального відділу тонкої кишки є мукозна мікрофлора (мікробіота приепітеліальної біологічної

плівки слизової оболонки) та у меншій мірі алохтонна мікрофлора, що потрапляє у цей біотоп з харчами та напоями. Мікрофлора приепітеліальної біологічної плівки являється найбільш стабільною і відіграє суттєву роль у колонізаційній резистентності та збереженні здоров'я хазяїна. Тому, наступним етапом з вивчення впливу максимальної терапевтичної дози (50,0мг/кг) тетрацикліну на мікробіоту дистального відділу тонкої кишки було дослідження мікрофлори приепітеліальної біологічної плівки цього біотопу. Результат вивчення видового складу і популяційного рівня мікробіоти приепітеліальної біологічної плівки слизової оболонки дистального відділу тонкої кишки наведені в (табл. 4).

Таблиця 4 - Вплив тетрацикліну у дозі 50,0мг/кг на популяційний рівень мікрофлори приепітеліальної біоплівки слизової оболонки дистального відділу тонкої кишки білих щурів

Мікроорганізми	Основна група (n=10)			Контрольна група (n=10)			р
	ПР	ККД	КЗ	ПР	ККД	КЗ	
I. Облігатні анаеробні бактерії.							
Бифідобактерії	-	-	-	6,79±0,17	167,24	0,24	-
Лактобактерії	-	-	-	5,68±0,21	111,92	0,18	-
Еубактерії	-	-	-	4,72±0,29	46,50	0,09	-
Бактероїди	3,87±0,20	43,24	0,31	4,8±0,24	120,44	0,22	0,05
Пептокок	3,40±0,13	28,49	0,20	-	-	-	-
Пептострептококи	-	-	-	4,84±0,37	47,68	0,10	-
Клостридії	3,87±0,29	32,43	0,23	-	-	-	-
II. Факультативно анаеробні та аеробні бактерії.							
Кишкова паличка	-	-	-	3,65±0,23	89,90	0,18	-
Пантотеї	3,30	9,22	0,06	-	-	-	-
Клебсієли	3,46±0,27	28,99	0,20	-	-	-	-
Ентерококи	-	-	-	5,65±0,44	111,33	0,21	-

Примітка: ККД – коефіцієнт кількісного домінування; ПР – популяційний рівень в lg КУО; КЗ – коефіцієнт значущості; р – величина достовірності.

Процес самовідновлення протягом 10 днів мікробіоти порожнини товстої кишки в експериментальних тварин, які протягом 5 днів отримували максимальну терапевтичну дозу (50мг/кг) тетрацикліну гідрохлориду, характеризується появою у помірного популяційному рівні у всіх тварин автохтонних облигатних анаеробних бактерій роду Lactobacillus, Bifidobacterium, Bacteroides, Peptostreptococcus та факультативних анаеробних та аеробних бактерій

роду Escherichia, Enterococcus, Bacillus, зниженням висівання умовно патогенних ентеробактерій та появою дріжджоподібних грибів роду Candida та інших умовно патогенних мікроорганізмів.

Порушений видовий склад та популяційний рівень мікробіоти при-епітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої кишки відновлюється більш ефективно за рахунок активного заселення слизової оболонки ендogenous автохтонними облигатними анаеробними

біфідобактеріями, лактобактеріями, бактероїдами та іншими бактеріями.

Процес самовідновлення мікробіоти приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки товстої кишки проходить більш ефективно, ніж мікрофлора порожнини товстої кишки. Через 10 днів у процесі самовідновлення мікробіоти дистального відділу тонкої кишки формується тенденція до нормалізації якісного та кількісного складу мікробіоти цього біотопу.

Після припинення перорального введення тетрацикліну у дозі 50 мг/кг у процесі самовідновлення протягом 10 днів формується тенденція нормалізації мікрофлори порожнини дистального відділу тонкої кишки за рахунок появи і досягнення помірної кількості у порожнині кишки автохтонних облигатних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, *Enterococcus* та елімінації із порожнини кишки окремих родів ентеробактерій (*Klebsiella*).

Мікробіота приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки дистального відділу тонкої кишки має тенденцію до її нормалізації за рахунок елімінації із цього біотопу окремих ентеробактерій (*Pantotea*) та появу автохтонних облигатних анаеробних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, факультативних анаеробних та аеробних бактерій роду *Enterococcus*, *Escherichia*, які досягають помірного популяційного рівня і стають домінуючими, формуючи головну мікробіоту біотопу.

Після створення моделі кишкового дисбактеріозу введенням перорально щоденно протягом 10 днів тетрацикліну у максимальній терапевтичній дозі на шостий день проводили заходи направлені на деконтамінацію та корекцію якісного та кількісного складу мікробіоти порожнини і приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої та дистального відділу тонкої кишки, за допомогою «Біфіформу дитячого порошку 21».

Таким чином, пероральне використання біфіформу у тварин із дисбактеріозом III – IV ступеня протягом 10 днів значно покращує якісний і кількісний склад мікробіоти порожнини товстої кишки за рахунок появи і досягнення помірного (нормального) популяційного рівня, коефіцієнту кількісного домінування і коефіцієнту значущості бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia*. Але десятиденне використання біфіформу недостатнє для повної нормалізації мікробіоти цього біотопу.

Використання біфіформу протягом 10 днів при пероральному введенні призводить до заселення слизової оболонки товстої кишки у всіх тварин бактеріями роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides* та *Escherichia*; у частини тварин – бактеріями роду *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Enterococcus*. На цьому фоні настає деконтамінація слизової оболонки товстої кишки умовно патогенних бактерій роду *Peptococcus*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Pantotea*.

Біфіформ при пероральному введенні протягом 10 днів значно покращує якісний склад мікробіоти порожнини дистального відділу тонкої кишки за рахунок появи у помірному популяційному рівні представників головної мікробіоти цього біотопу автохтонних облигатних анаеробних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus* і факультативних анаеробних та аеробних ентерококів; зростання популяційного рівня, індексу постійності, коефіцієнту кількісного домінування і значущості в автохтонних облигатних бактерій роду *Bacteroides*, *Eubacterium*. При цьому настає елімінація із порожнини дистального відділу тонкої кишки патогенних (ентеротоксигенних ешерихій) та умовно патогенних (клебсіел) ентеробактерій, пептокока, клостридій.

Перераховане засвідчує про те, що використання біфіформу протягом 10 днів активно сприяє покращенню якісного та кількісного складу мікрофлори вмісту порожнини дистального відділу тонкої кишки. Разом з тим, повного відновлення за цей період не настає, що вимагає продовження пробіотикотерапії.

Використання протягом 10 днів біфіформу для відновлення порушеного якісного і кількісного складу мікрофлори приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки дистального відділу тонкої кишки після перорального 5 денного введення антибіотика широкого спектру дії у максимальній терапевтичній дозі виявляється ефективним за рахунок відновлення персистенції у цьому біотопі автохтонних облигатних анаеробних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* і факультативних анаеробних та аеробних бактерій роду *Enterococcus*, *Escherichia*, які формують головну мікробіоту кишечника і виявляються у помірному популяційному рівні, мають високий коефіцієнт кількісного домінування, індекс постійності, коефіцієнт значущості. Все це засвідчує про початок ефективного відновлення мікробіоти приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки тонкої кишки, підтвердженням ефективності біфіформу у відновленні якісного і кількісного складу мікрофлори даного біотопу є елімінація із слизової оболонки умовно патогенних клебсіел, пептокока і бактерій роду *Clostridium*.

Разом з тим, наявність автохтонних облигатних бактерій у помірному популяційному рівні, персистенції умовно патогенних пантотей засвідчує про продовження порушень мікрофлори приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки тонкої кишки, що потребує продовження санації мікробіоти шляхом деконтамінації умовно патогенних мікроорганізмів та корекції якісного і кількісного складу за рахунок продовження терміну використання пробіотика.

Висновки

1. Середня терапевтична доза (20 мг/кг) тетрацикліну гідрохлориду, введена безпосередньо у шлунок металічним зондом призводить до незначних змін видового складу та глибоких порушень популяційного рівня мікробіоти порожнини і приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої і дистального відділу тонкої кишки

– зниження кількісного складу автохтонних облигатних анаеробних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium* ($p < 0,001$) та суттєвого ($p < 0,001 - < 0,05$) зростання популяційного рівня умовно патогенних бактерій роду *Bacteroides*, *Peptococcus*, *Clostridium* та ентеробактерій (бактерій роду *Klebsiella*, *Edwardsiella*, *Pantotea*, *Proteus*). Вказана доза антибіотику призводить до послаблення колонізаційної резистентності слизової оболонки товстої кишки за рахунок глибоких змін якісного складу мікробіоти приєпітеліальної біологічної плівки, що проявляється елімінацією із приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки товстої кишки представників головної автохтонної облигатної анаеробної мікрофлори.

2. Максимальна (50 мг/кг) терапевтична доза тетрацикліну введена щоденно пероральним шляхом білим щурам протягом 5 днів проявляє стерилізуючий ефект як у вмісті, так і в приєпітеліальній біоплівці слизової оболонки товстої і дистального відділу тонкої кишки, що сприяє суттєвому зниженню колонізаційної резистентності слизової оболонки товстої і дистального відділу тонкої кишки і вона може стати вхідними воротами для проникнення патогенних та умовно патогенних ентеробактерій та ін. через стінку товстої кишки у кров та у внутрішні органи.

3. При використанні середньої терапевтичної дози (20 мг/кг) тетрацикліну самовідновлення через 10 днів мікробіоти порожнини та слизової оболонки товстої і дистального відділу тонкої кишки характеризується поступовим повільним (на 3,33 – 35,1 %) зростанням автохтонних облигатних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, але їх популяційний рівень залишається практично незмінним. Процес самовідновлення мукозної мікрофлори (приєпітеліальної біоплівки) характеризується зростанням популяційного рівня, індексу постійності та коефіцієнту кількісного домінування у бактерій *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Peptococcus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* та умовно патогенних ентеробактерій. При цьому приєпітеліальна біоплівка слизової оболонки товстої і дистального відділу тонкої кишки контамінується дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

4. Процес самовідновлення протягом 10 днів мікробіоти порожнини товстої і дистального відділу тонкої кишки білих щурів, які протягом 5 днів отримували максимальну терапевтичну дозу (50 мг/кг) тетрацикліну, характеризується появою у помірному популяційному рівні у всіх тварин автохтонних облигатних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia*; зниженням висівання умовно патогенних ентеробактерій та контамінацією біотопу дріжджоподібними грибами роду *Candida*, іншими умовно патогенними мікроорганізмами. Порушений якісний і кількісний склад мікробіоти приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки товстої і дистального відділу тонкої кишки відновлюється за рахунок активного заселення слизової оболонки ендogenous автохтонними облигатними бактеріями роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides* та ін.

5. Порівняльний аналіз природного самовідновлення мікробіоти порожнини та приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки кишечника (товстої та дистального відділу тонкої кишки) після використання середньої та максимальної дози антибіотика широкого спектру дії, засвідчує про те, що після використання максимальної терапевтичної дози, яка викликає стерилізуючий ефект, процес природного самовідновлення перебігає більш активно та інтенсивно, що дає можливість рекомендувати використовувати антибіотики широкого спектру дії у максимальних терапевтичних дозах протягом 5 днів.

6. «Біфіформ дитячий порошок № 21» – ефективний засіб відновлення якісного і кількісного складу мікрофлори порожнини та приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої і дистального відділу тонкої кишки білих щурів, у яких сформований дисбактеріоз кишечника за п'ятиденного введення тетрацикліну у максимальній терапевтичній дозі (50 мг/кг).

Пероральне введення біфіформу протягом 10 днів призводить до появи у цьому біотопі у помірному популяційному рівні автохтонних облигатних анаеробних бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* і факультативних анаеробних та аеробних бактерій роду *Enterococcus*, *Escherichia*, які за популяційним рівнем, індексом постійності, коефіцієнтом кількісного домінування, коефіцієнтом значущості і частотою зустрічання формують головну мікробіоту біотопу і стають домінуючими у мікробіоценозі біотопу, що засвідчує про суттєву тенденцію до нормалізації якісного і кількісного складу мікробіоти товстої і тонкої кишки.

Використання біфіформу призводить до деконтамінації та елімінації патогенних (ентеротоксигенних ешерихій) та умовно патогенних ентеробактерій, пептокока, клостридій, стафілококів та інших мікроорганізмів.

References

1. Effects of pro- and antibiotics on the intestinal homeostasis in a computer controlled model of the large intestine. / A.Rehman, F.A.Heinsen, K.Venema, M.Koenen, [et al.]. // *Gastroenterology* – 2011. – Vol. 140, № 5, Suppl. 1 – 852. p.
2. Dyachenko P.A., Antibiotics. End of era? / P.A.Dyachenko // *Bulletin of the SSU series "Medicine"*. – 2012. – № 2. – Suppl. 5. – 19.
3. Kozlov S.N. Antybakterial preparations in clinical practice. / S.N.Kozlova, R.S.Kozlova // *НЭОТАР – Media*. – 2010. – 232 p.
4. Kopcha V.S. Antibiotic resistance and probiotics: Thoughts and Facts / V.S.Kopcha // *Infectious diseases*. – 2009. – № 1. – Suppl. 76 – 81.
5. Polyak M.S. Antibiotic therapy. Theory and Practice. / M.S.Polyak // – *InformMed*. – 2010. – 424 p.
6. Posokhova K.A. Side effects of tetracycline antibiotics. / K.A.Posokhova, O.P.Viktorov // *Clinical Pharmacy*. – 2004. – Т. 8, № 2. – Suppl. 6 – 15.
7. Modern antibiotics and principles of rational antibiotic therapy (Part II) / V.S.Kopcha, M.A.Andreychin, Zh.O.Rebenok. [Etc.] // *Infectious diseases*. – 2012. – № 1. – Suppl. 64 – 75.

8. Tetracyclins: Side reactions in medical application. / A.Vyktorov, K.Posohova, E.Matveeva, etc. – 2006. // Family Medicine. – № 3. – Suppl. 40 – 41.
9. Borsch S.K. The biological compatibility of probiotic products for use in integrated circuits syndrome treatment of intestinal dysbiosis / S.Borsch, V.Mischuk, V.Blahodatnyi // Galician doctor Gazette. – 2008. – Т. 15, № 1. – P. 5 – 8.
10. Kopcha V.S. Probiotics: Thoughts about the perspective of quality, efficacy and safety of antibiotic resistance / V.S.Kopcha // Bulletin of research. – 2011. – № 1. – P. 4 – 8.
11. Kuchmak O.B. Colon microbiota changes in patients with rheumatoid arthritis during Bifiform treatment / O.B.Kuchmak // Infectious diseases. – 2012. – № 3. – Suppl. 59 – 65.
12. Holyar O.I.Effect of tetracycline in doses of 50 mg/kg (maximum therapeutic dose) on the microbiota of the distal small intestine of white rats / O.I.Holyar, I.Y.Sydorchuk // General Pathology and Pathological Physiology – 2009 – V.4, № 2. – Suppl. 16 – 22.
13. Holyar O.I Renewable efficiency «Bifiform Baby powder № 21» microflora of the distal small intestine of white rats with experimental dysbiosis / O.I.Holyar, I.Y.Sydorchuk // General Pathology and Pathological Physiology. – 2010, – V.5, № 1. – Suppl. 39 – 45.
14. Holyar O.I. Effect of "Bifiform baby powder number 21" to restore the colon microbiota rats treated orally for 5 days maximum (50.0 mg / kg) therapeutic dose of tetracycline hydrochloride / O.I.Holyar, I.Y.Sydorchuk // General Pathology and Pathological Physiology. – 2010, – V.5, № 4. – P. 5 – 10.
15. Bondarenko V.M. Dysbiosis and preparations with probiotic function / V.M.Bondarenko, A.A.Vorobev // Zh. Microbiology. – 2004. – №1. – S. 84-92.

УДК 616.341/345-008.87-08:615.332
СТУПІНЬ ВПЛИВУ ТЕТРАЦИКЛІНУ НА
МИКРОБІОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКУ ТА ЙОГО
КОРЕКЦІЯ ПРЕПАРАТОМ «БІФІФОРМ – 21»
Голяр О.І., Сидорчук І.Й.

У роботі наведено теоретичне узагальнення і наукове вирішення наукової задачі, що виявляється в експериментальному обґрунтуванні побічної дії антибіотику широкого спектру дії (тетрацикліну гідрохлориду) на якісний та кількісний склад мікробіоти порожнини і приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої та дистального відділу тонкої кишки; обґрунтуванні процесів самовідновлення протягом 10 днів якісного і кількісного складу мікробіоти цього біотопу у залежності від дози (середньої і максимальної

терапевтичної дози) при пероральному введенні білим щурам, а також вплив пробіотику «Біфіформ дитячий порошок № 21» на відновлення порушеного якісного і кількісного складу мікробіоти кишечника.

Ключові слова: мікробіома, товста і тонка кишка, нормофлора, дисбактеріоз, тетрациклін.

УДК 616.341/345-008.87-08:615.332
СТЕПЕНЬ ВЛИЯНИЯ ТЕТРАЦИКЛИНА НА
МИКРОБИОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКА И ЕГО
КОРРЕКЦИЯ ПРЕПАРАТОМ «БИФИФОРМ - 21»
Голяр О.И., Сидорчук И.И.

В работе приведено теоретическое обобщение и научное решение научной задачи, которая проявляется в экспериментальном обосновании побочного действия антибиотика широкого спектра действия (тетрациклина гидрохлорида) на качественный и количественный состав микробиоты полости и приэпителиальной биологической пленки слизистой оболочки толстой и дистального отдела тонкой кишки; обосновании процессов самовосстановления в течение 10 дней качественного и количественного состава микробиоты этого биотопа в зависимости от дозы (средней и максимальной терапевтической дозы) при пероральном введении белым крысам, а также влияние пробиотика «Бифиформ детский порошок № 21» на восстановление нарушенного качественного и количественного состава микробиоты кишечника.

Ключевые слова: микробиома, толстая и тонкая кишка, нормофлора, дисбактериоз, тетрациклин.

UDC 616.341/345-008.87-08:615.332
THE DEGREE OF TETRACYCLINE EFFECTS ON
THE INTESTINAL MICROBIOCENOSIS AND ITS
CORRECTIONS BY «BIFIFORM – 21»
Holyar O.I., Sydorchuk I.Y.

The paper presents a theoretical synthesis and scientific solution of scientific problem, grounded on the experimental side effects of broad-spectrum antibiotic (tetracycline hydrochloride) on qualitative and quantitative composition of the microbiota in the biological layer on mucus membrane of colon and distal part of small intestine; substantiation of self-healing process within 10 days qualitative and quantitative composition of the microbiota of given biotype, depending on the dose of tetracycline (average and maximum therapeutic dose) orally administered white rats, and the influence of probiotic «Child powder Bifiform number 21» on the restoration of the qualitative and quantitative composition of the gut microbiome.

Keywords: microbiome, large and small intestine, normal flora, dysbacteriosis, tetracycline.