

УДК 591.26:599.323.45

Д. В. Міюс, О. С. Воронкова, А. І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ВПЛИВ ІНТРАВАГІНАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРАМФЕНІКОЛУ НА СКЛАД МІКРОФЛОРИ ПІХВИ МИШЕЙ

Проаналізовано вплив інтравагінального введення хлорамфеніколу у концентрації 0,5 мг/мл на склад мікрофлори репродуктивного тракту мишей. Отримані дані порівнювали з даними контрольної групи тварин, до якої входили здорові невагітні самиці мишей. Інтравагінальне введення хлорамфеніколу провокує розвиток дисбіозу репродуктивного тракту мишей, що виражається у зниженні кількісного показника мікроаерофільних *Lactobacillus* на 45 %, анаеробних *Lactobacillus* на 38 % та виявленні представників роду *Bacillus* ($1,78 \pm 1,25$ КУО/мл) і грибів роду *Candida* ($2,60 \pm 2,25$ КУО/мл), яких у здорових тварин не виявлено.

Д. В. Миус, О. С. Воронкова, А. И. Винников

Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ВЛИЯНИЕ ИНТРАВАГИНАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ХЛОРАМФЕНИКОЛА НА СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ ВЛАГАЛИЩА МЫШЕЙ

Проанализировано влияние интравагинального введения антибиотика хлорамфеникола в концентрации 0,5 мг/мл на состав микрофлоры репродуктивного тракта мышей. Полученные данные сравнивали с данными контрольной группы животных, в которую входили здоровые небеременные самки мышей. Интравагинальное введение хлорамфеникола провоцирует развитие дисбиоза репродуктивного тракта мышей, выражающееся в снижении количественного показателя микроаэрофильных *Lactobacillus* на 45 %, анаэробных *Lactobacillus* на 38 % и выявлении представителей рода *Bacillus* ($1,78 \pm 1,25$ КОЕ/мл) и грибов рода *Candida* ($2,60 \pm 2,25$ КОЕ/мл), которых у здоровых животных не обнаружили.

D. V. Miys, O. S. Voronkova, A. I. Vinnikov

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University

EFFECT OF INTRAVAGINAL INTRODUCTION OF CHLORAMPHENICOL ON THE VAGINAL MICROFLORA OF MICE

The influence of intravaginal introduction of antibiotic chloramphenicol (0.5 mg/ml) on the mice reproductive tract's microflora was studied. The healthy nonpregnant female mice served as a control. Intravaginal introduction of chloramphenicol provoked the development of dysbiosis in the mice reproductive tract. Decrease of number of microaerophilic *Lactobacillus* by 45 % and anaerobic *Lactobacillus* by 38 % was shown. Representatives of *Bacillus* (1.78 ± 1.25 CFU/ml) and fungi *Candida* (2.60 ± 2.25 CFU/ml) were found only in the treated mice of the experimental group.

Вступ

Для впровадження в медичну практику нових пробіотичних препаратів потрібно на доклінічному етапі випробувань довести ефективність і безпечність пробіотичних

засобів. Проводять такі доклінічні випробування на експериментальних моделях дисбіозу. Одна з найпростіших і легковідтворюваних моделей дисбіозу репродуктивного тракту – експериментальна модель (лабораторним тваринам уводять інтравагінально антибіотики широкого спектра дії). Поряд із клінічними та епідеміологічними спостереженнями досліди на тваринах сприяють розширенню знань про властивості мікроорганізмів та їх взаємодію між собою та організмом-носієм. Моделювання використовується для вивчення складних механізмів патогенезу, морфогенезу та імуногенезу хвороби. У подальшому напрацьована модель може використовуватися для розробки терапії або для експериментального випробування нових лікарських засобів. Велика складність – подальша екстраполяція даних, отриманих у моделюванні на тваринах, на людину, адже досягнути повної ідентичності в клініко-морфологічному відношенні неможливо [1; 4; 9; 15]. Відомостей щодо складу мікробіоценозів різних ділянок організму тварин мало. Тому питання про вивчення мікробіоценозу репродуктивного тракту експериментальних тварин лишається відкритим [3; 7; 8].

Створення експериментальних моделей надає дослідникам широких можливостей для вивчення дисбіотичних станів і зв'язків систем реагування організму тощо. Важливим і перспективним напрямком вважається використання моделей для дослідження імуномодулювальних, антимікробних та інших препаратів [2; 5; 6; 17].

Мета роботи – створити модель дисбіозу шляхом інтравагінального уведення антибіотика хлорамфеніколу мишам.

Матеріал і методи досліджень

Для створення моделі дисбіозу репродуктивного тракту досліди проводили на самцях білих лабораторних мишей віком 18–20 тижнів, вагою 18–20 г, яких утримували в умовах, що відповідають стандарту. При дослідженнях також обстежили тварин контрольної групи, яка складалася зі здорових невагітних самок мишей. Уведення здійснювали протягом 5 діб (один раз на добу) експериментальній групі тварин і отримані дані порівнювали із контролем: група I (контроль) – клінічно здорові миші ($n = 5$); група II – тварини, яким вводили хлорамфенікол ($n = 5$). Антибіотик вводили в концентрації, яка становила максимальну добову, що у перерахунку на вагу тварини становило 0,5 мг.

Висіви проводили по закінченні введення антибіотика. Матеріал із репродуктивного тракту тварин відбирали уніфікованим стерильним ватним тампоном і проводили змив із нього в 1 мл стерильного фізіологічного розчину (масова частка натрію хлориду – 0,5 %). Культури ідентифікували за результатами вивчення морфологічних, фізіолого-біохімічних ознак. Після цього проводили висів аліквот (по 100 мкл) із нерозведеного матеріалу для виявлення представників роду *Lactobacillus* на середовище лактобакагар; для виявлення аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus* – на МПА; для виявлення грибів роду *Candida* – на середовище Сабуро. Для визначення анаеробів проводили висів аліквот, усіванням по 100 мкл у пробірки до напіврідкого середовища лактобакагар для визначення *Lactobacillus* [10; 11; 16].

Результати та їх обговорення

До складу мікрофлори піхви мишей входили такі мікроорганізми (табл.): мікроаерофільні та анаеробні *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Enterococcus spp.* та види родин Enterobacteriaceae, *Peptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Bacteroides spp.* Висів на середовище Сабуро для виявлення *Candida* не дав результатів.

Склад мікрофлори репродуктивного тракту здорових мишей і тварин експериментальної групи

Варіант досліджу	Факультативно-анаеробні та аеробні бактерії					Анаеробні бактерії						
	мікроаерофільні <i>Lactobacillus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Candida</i>	<i>Peptococcus</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Bacteroides</i>	анаеробні <i>Lactobacillus</i>
Нормоценоз	2,90 ± 1,55	2,96 ± 1,61	2,54 ± 1,27	1,60	2,65 ± 1,28	–	1,64 ± 1,22	–	2,85 ± 1,61	2,68 ± 1,04	2,50 ± 1,63	2,34 ± 1,05
Антибіотико-терапія	1,60 ± 1,25	2,23 ± 1,88	1,88 ± 1,47	–	1,60	1,78 ± 1,25	1,80 ± 1,14	2,60 ± 2,25	–	2,15 ± 1,70	1,53 ± 1,25	1,92 ± 1,57

Існують дві гіпотези щодо виникнення дисбіозу репродуктивного тракту. Одна з них стверджує, що розвиток дисбіозу – результат внутрішніх порушень мікроекології самого репродуктивного тракту. Друга стверджує, що виникнення та розвиток дисбіозу – наслідок дії екзогенних факторів, одним з яких може бути інтравагінальне введення антибіотиків. Хлорамфенікол – антибіотик широкого спектра дії [13], ефективний відносно багатьох грампозитивних і грамнегативних бактерій, рикетсій, спірохет. Діє на штами бактерій, стійкі до пеніциліну, стрептоміцину, сульфаніламідів. У звичайних дозах діє бактеріостатично (перешкоджає розмноженню бактерій). Слабкоактивний відносно кислотостійких бактерій, синьогнійної палички, клостридій і найпростіших. Механізм антимікробної дії хлорамфеніколу пов'язаний із порушенням синтезу білків мікроорганізмів. Лікарська стійкість до препарату розвивається відносно повільно, при цьому, як правило, перехресної стійкості до інших хімотерапевтичних засобів не виникає. Експериментальні дослідження із антибактеріальним препаратом проведено в напрямку відстеження динаміки змін, які виникають унаслідок введення антибіотичного препарату [12].

З отриманих даних очевидно, що антибіотик активний переважно проти аеробної флори. Водночас після завершення курсу препарату спостерігалось значне пригнічення росту кокових мікроорганізмів – представників родів *Staphylococcus*, *Peptococcus* і *Peptostreptococcus* [14; 18].

Дослідження змін складу мікрофлори при введенні антибіотика показало зниження кількісного показника мікроорганізмів таких родів: мікроаерофільні *Lactobacillus* – до lg 1,60 ± 1,25 КУО/мл (на 45 %), *Staphylococcus* – до lg 2,23 ± 1,88 (на 25 %), *Streptococcus* – до lg 1,88 ± 1,47 (на 26 %), *Peptostreptococcus* – до lg 2,15 ± 1,70 (на 20 %), *Bacteroides* – до lg 1,53 ± 1,25 (на 39 %), анаеробні *Lactobacillus* – до lg 1,92 ± 1,57 КУО/мл (на 38 %). Значного впливу на кількість представників родини *Enterobacteriaceae* не зареєстровано. Мікроорганізмів родів *Enterococcus* і *Peptococcus* не виявлено. Також на моделі антибіотикіндукованого дисбіозу виявлено мікроорганізми, які не зустрічаються у складі мікрофлори репродуктивного тракту здорових мишей: *Bacillus* (lg 1,78 ± 1,25 КУО/мл) та *Candida* (lg 2,60 ± 2,25 КУО/мл). Дані, отримані у результатах досліджень, свідчать про субкомпенсований дисбіоз репродуктивного тракту у тварин експериментальної групи II [11; 19].

Підсумовуючи результати досліджень, можна дійти висновку, що застосування антибіотичних препаратів порушує рівновагу мікробіоценозу піхви у лабораторних

тварин. Зміни складу мікрофлори репродуктивного тракту мишей за умов уведення антибіотичних препаратів переважно викликають зменшення кількісного показника лактобацил і його зростання для анаеробних і факультативно-анаеробних умовно-патогенних мікроорганізмів. Це подібне до тенденцій, які виявлено при розвитку дисбактеріозу репродуктивного тракту жінок. Спостерігали зниження порівняно з контролем кількості лактобацил, які є одними з ключових мікроорганізмів резидентної мікрофлори організму та важливі для захисту організму від патогенних мікроорганізмів.

Висновки

Зміни складу мікрофлори репродуктивного тракту мишей при інтравагінальному уведенні антибіотика хлорамфеніколу спричинювали розвиток дисбіозу, який характеризувався зниженням кількісного показника для мікроаерофільних *Lactobacillus* на 45 %, анаеробних *Lactobacillus* – на 38 %. Спостерігалось значне зниження кількості представників родів *Staphylococcus*, *Peptococcus* і *Micrococcus*. Представники родів *Enterococcus* і *Peptococcus* не виявлені. При використанні хлорамфеніколу для моделювання дисбактеріозу піхви відмічено появу представників родів *Bacillus* ($\lg 1,78 \pm 1,25$ КУО/мл) та *Candida* ($\lg 2,60 \pm 2,25$ КУО/мл), яких у контрольній групі не виявлено, що дозволяє встановити субкомпенсований дисбіоз.

Останнім часом збільшується випуск пробіотиків, перед використанням яких потрібно провести доклінічні випробування. Отримана модель перспективна для багатьох пробіотичних препаратів.

Бібліографічні посилання

1. **Бенюмович М.** Использование животных в экспериментах // Врач. – 1998. – № 2. – С. 37–40.
2. **Блохина И. Н.** Дисбактериозы / И. Н. Блохина, В. Г. Дорофейчук. – Л. : Медицина, 1999. – 175 с.
3. **Бондаренко В. М.** Дисбиоз. Современные возможности профилактики и лечения / В. М. Бондаренко, В. Ф. Учайкин, А. О. Мурашова. – М. : Медицина, 1995. – С. 123–142.
4. **Бондаренко В. М.** Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией / В. М. Бондаренко, А. А. Воробьев // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2004. – № 1. – С. 84–92.
5. **Вальдман А. А.** Опыт экспериментального анализа инфекционного процесса. – М. : Медицина, 1986. – С. 205–213.
6. **Григорович Л. В.** Бактериальный вагиноз: клиника, течение, лечение // Журнал практичного лікаря. – 2005. – № 1. – С. 17–20.
7. **Игнатова Г. Н.** Дисбактериоз. Причины возникновения, лечение и профилактика / Г. Н. Игнатова, В. С. Крамарь, Ю. А. Перов / Метод. рекомендации для врачей. – 1999. – № 2. – 25 с.
8. **Исучение** вагинальной и кишечной микрофлоры женщин в предродовом периоде и ее коррекция при дисбиотических нарушениях / В. С. Подгорский, Т. М. Лясковский, Н. К. Коваленко и др. // Мікробіологічний журнал. – 2006. – № 2. – С. 92–104.
9. **Лабораторные** животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / Под ред. И. П. Западнюка и др. – К. : Вища школа, 1983. – 383 с.
10. **Маянский А. Н.** Дисбактериоз: иллюзии и реальность // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – № 1. – С. 65–73.
11. **Определитель** бактерий Берджи / Под ред. Д. Хоулта, Н. Криля, П. Синта и др. – В 2 т. – М. : Мир, 1997.

12. **Поиск** штаммов бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* перспективных для создания пробиотиков / С. А. Старовойтова, Л. Н. Лазаренко, Л. В. Авдеева и др. // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Біологія. – 2009. – Вип. 26. – С. 79–87.
13. **Принципы** выбора антибиотика для лечения гнойно-септических заболеваний в оперативной гинекологии / С. Н. Буянова, Н. А. Щукина, В. В. Омеляновский и др. // Акушерство и гинекология. – 2001. – № 3. – С. 6–9.
14. **Шептулин А. А.** Причина возникновения дисбактериозов / А. А. Шептулин, В. Д. Маалокс // Клиническая фармакология и терапия. – 1993. – № 2. – С. 68–69.
15. **Accuracy** of Nugent's score and each Amsel's criteria in the diagnosis of bacterial vaginosis / K. Chaijareenont, K. Sirimai, D. Boriboonthirunsam et al. // J. Med. Assoc. Thai. – 2004. – Vol. 87 (11). – P. 1270–1274.
16. **Adherence** of *Lactobacillus crispatus* to vaginal epithelial cells from women with or without a history of recurrent urinary tract infection / L. Kwok, A. E. Stapleton, W. E. Stamm et al. // J. Urol. – 2006. – Vol. 176, N 5. – P. 2050–2054.
17. **Susceptibility** to vaginal candidiasis under different conditions in mice / J. Tan, J. Li, S. Chen et al. // J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci. – 2005. – Vol. 25, N 6. – P. 744–746.
18. **The *in vitro* activity** of vaginal *Lactobacillus* with probiotic properties against *Candida* / M. Strus, A. Kucharska, G. Kukla et al. // Infect. Dis. Obstet. Gynecol. – 2005. – Vol. 13, N 2. – P. 69–75.
19. **Vintini E.** Effect of *Lactobacillus* administration in the vaginal tract of mice: Evaluation of side effects and local immune response by local administration of selected strains / E. Vintini, V. Ocana, M. E. Nader-Macias // Methods Mol. Biol. – 2004. – Vol. 268. – P. 401–410.

Надійшла до редколегії 14.07.2011