

ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 579.23:222:243.2.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ И КАЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ БЕЛЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АНТИБИОТИК- ИНДУЦИРОВАННОМ ДИСБИОЗЕ

Мухамедов Р.С.¹, Абдукаримов Д.И.²

¹ Научная лаборатория ООО «HAYOT TECHNOLOGY», г. Ташкент,

² Ташкентский государственный медицинский университет

XULOSA

Eksperimental disbakterioz sharoitida laboratoriya oq kalamushlar ichak mikrobiotsenozidagi miqdoriy va sifat o'zgarishlar o'rganildi..

Materiallar usullar. Tadqiqot 20 ta laboratoriya oq kalamushda (n=20) o'tkazildi. Nazorat guruhi 0,9 % NaCl, tajriba guruhi esa seftriakson (400 mg/kg, per os) qabul qildi. 7 kundan so'ng najas namunalari bakteriologik usulda tekshirildi, mikroorganizmlar MALDI Biotyper yordamida identifikatsiya qilindi va antibiotiklarga sezgirlik EUCAST mezonlari asosida baholandi.

Natijalar. Seftriakson bilan induksiyalangan disbakterioz sharoitida laboratoriya oq kalamushlar ichak mikrobiotsenozida sezilarli o'zgarishlar kuzatildi. Tajriba guruhida bifidobakteriyalar, laktobakteriyalar va normal fermentativ *E. coli* miqdori kamaydi, laktoza-manfiy va gemolitik *E. coli*, *Proteus mirabilis*, enterokokklar va stafilokokklar esa ko'paydi. Natijada mikrobiotsenoz buzilishi va normal mikrofloraning antagonist faolligi pasaydi.

Xulosa. Seftriakson bilan induksiyalangan disbakterioz laboratoriya oq kalamushlarda ichak mikrobiotsenozining buzilishi, obligat mikrofloraning kamayishi va shartli patogen mikroorganizmlarning ko'payishi bilan tavsiflandi. Natijalar antibiotik ta'sirida mikrobiotada strukturaviy va funksional o'zgarishlar rivojlanishini tasdiqlaydi.

Kalitso'zlar: eksperimental disbakterioz, seftriakson, laboratoriya oq kalamushlar, ichak mikrobiotsenozi, mikrobiota, bifidobakteriyalar, laktobakteriyalar, shartli patogen mikroorganizmlar, antibiotik-induksiyalangan disbakterioz.

Кишечная микробиота рассматривается как важнейший фактор поддержания гомеостаза организма, участвующий в регуляции иммунных, метаболических и барьерных функций кишечника [7,8]. В нормальных условиях микробиоценоз обеспечивает

SUMMARY

The quantitative and qualitative changes in the intestinal microbiocenosis of laboratory white rats under experimental dysbacteriosis conditions were studied.

Materials and methods. The study was conducted on 20 laboratory white rats (n=20). The control group received 0.9% NaCl, while the experimental group received ceftriaxone at a dose of 400 mg/kg per os. After 7 days, fecal samples were analyzed using a bacteriological method. Microorganisms were identified using the MALDI Biotyper system, and antibiotic susceptibility was assessed according to EUCAST criteria.

Results. In ceftriaxone-induced experimental dysbiosis, significant changes in the intestinal microbiocenosis of laboratory white rats were observed. The experimental group showed a decrease in bifidobacteria, lactobacilli, and *E. coli* with normal enzymatic activity, along with an increase in lactose-negative and hemolytic *E. coli*, *Proteus mirabilis*, enterococci, and staphylococci. As a result, the microbiocenosis structure was disrupted and the antagonistic activity of normal microbiota was reduced.

Conclusion. Ceftriaxone-induced experimental dysbiosis in laboratory white rats was characterized by disruption of the intestinal microbiocenosis, a decrease in obligate microbiota, and an increase in opportunistic microorganisms. The results confirm the development of structural and functional changes in the microbiota under antibiotic exposure.

Keywords: experimental dysbacteriosis, ceftriaxone, laboratory white rats, intestinal microbiocenosis, microbiota, bifidobacteria, lactobacilli, opportunistic microorganisms, antibiotic-induced dysbacteriosis.

устойчивость к колонизации патогенными микроорганизмами и участвует в поддержании физиологического состояния организма [8].

Современные исследования показывают, что нарушение состава кишечной микробиоты (дис-

биоз) связано с развитием различных патологических состояний, включая воспалительные заболевания кишечника и аллергические реакции [3,10,12]. Изменения микробного состава кишечника сопровождаются нарушением кишечного барьера и повышением проницаемости слизистой оболочки, что способствует развитию системных нарушений [5].

Одним из ключевых факторов, приводящих к выраженным изменениям микробиоты, является применение антибиотиков широкого спектра действия, что может вызывать антибиотик-ассоциированный дисбактериоз [6,13,14]. Экспериментальные исследования на животных моделях подтверждают, что антибиотики существенно изменяют состав как кишечной, так и оральной микробиоты [13].

Восстановление микробиоценоза кишечника рассматривается как важное направление современной медицины. Использование пробиотиков, пребиотиков и метабиотиков способствует коррекции микрoэкологических нарушений и восстановлению нормальной микрофлоры [1,9,11].

Отдельные штаммы пробиотических микроорганизмов обладают иммуномодулирующими свойствами и положительно влияют на иммунный ответ организма [11]. Таким образом, данные литературы подтверждают важную роль кишечной микробиоты в патогенезе различных заболеваний и обосновывают актуальность изучения антибиотик-индуцированных нарушений микробиоценоза кишечника [2,4,15].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение количественных и качественных изменений кишечной микробиоты лабораторных белых крыс при экспериментальном антибиотик-индуцированном дисбактериозе *in vivo*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для воспроизведения модели антибиотик-индуцированного дисбактериоза были использованы 20 белых лабораторных крыс массой 180–280 г, которые были распределены на две группы:

1. Контрольная группа ($n = 10$) – животным ежедневно *per os* вводили физиологический раствор (0,9% NaCl) в течение 7 суток.

2. Экспериментальная группа (Цефтриаксон, $n = 10$) – животным ежедневно *per os* вводили цефтриаксон, растворённый в физиологическом растворе (0,9% NaCl), в дозе 400 мг/кг массы тела в течение 7 суток.

В течение эксперимента проводилось наблюдение за массой тела и общим состоянием животных [13,14,15].

Через 7 суток после завершения курса введения антибиотика у лабораторных крыс были отобраны образцы кала. Для изучения состава кишечной микрофлоры применяли бактериологические методы исследования, включающие посев материала на селективные и дифференциально-диагностические питательные среды. Идентификация микроорганизмов осуществлялась с использованием системы

MALDI Biotyper, основанной на масс-спектрометрическом анализе белкового профиля микроорганизмов. Дополнительно идентификация выделенных культур подтверждалась на основании морфологических, культуральных и биохимических признаков. Количественную оценку микрофлоры проводили путём определения количества колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г исследуемого материала (КОЕ/г). Чувствительность выделенных микроорганизмов к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом в соответствии с международными рекомендациями EUCAST. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием методов вариационной статистики. Результаты представлены в виде среднего значения (M) и стандартной ошибки среднего ($\pm m$). Достоверность различий между группами оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённый бактериологический анализ кишечной микрофлоры лабораторных крыс выявил статистически значимые ($p < 0,05$) изменения микробиоценоза в экспериментальной группе по сравнению с контрольными значениями (табл. 1). В ходе исследования установлены выраженные изменения микробиоценоза кишечника между экспериментальной и контрольной группами. На фоне экспериментального воздействия наблюдалось значительное увеличение количества кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью: $(5,11 \pm 0,13) \times 10^9$ против $(1,93 \pm 0,18) \times 10^8$ в контрольной группе, при статистически значимых различиях между группами ($p < 0,05$, *t*-критерий Стьюдента). При этом отмечалось резкое снижение представителей нормофлоры. Так, количество бифидобактерий составило $(1,23 \pm 0,47) \times 10^4$ в экспериментальной группе против $(3,6 \pm 0,8) \times 10^9$ в контроле ($p < 0,05$), а лактобактерий – $(1,33 \pm 0,32) \times 10^3$ против $(7,6 \pm 1,0) \times 10^7$ соответственно ($p < 0,05$).

Одновременно выявлено выраженное увеличение условно-патогенной и оппортунистической микрофлоры. Количество лактозонегативной кишечной палочки составило $(5,22 \pm 0,03) \times 10^6$ против $(2,58 \pm 0,34) \times 10^4$ в контроле ($p < 0,05$). Для *Candida spp.* установлено повышение показателей до $(1,33 \pm 0,07) \times 10^6$ против $(1,88 \pm 0,13) \times 10^3$ ($p < 0,05$). Аналогичная тенденция наблюдалась для *Proteus mirabilis* $(1,23 \pm 0,12) \times 10^5$ против $(6,3 \pm 1,4) \times 10^3$ и *Aeromonas media* $(2,8 \pm 1,0) \times 10^7$ против $(5,9 \pm 0,9) \times 10^3$ ($p < 0,05$). Кроме того, в экспериментальной группе отмечено отсутствие антагонистической активности аутофлоры, тогда как в контрольной группе она сохранялась. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о выраженном дисбалансе кишечной микробиоты, характеризующемся снижением нормофлоры и увеличением условно-патогенных микроорганизмов при статистически значимых различиях между группами.

Таблица 1

Состав кишечной микрофлоры белых лабораторных крыс при дисбактериозе ($M \pm m$, $n = 10$)

№	Микроорганизмы	Количество микроорганизмов в 1 грамме	
		Экспериментальная группа	Контрольная группа
1	Кишечная палочка с нормальной ферментативной активностью	$(5,11 \pm 0,13) \times 10^9$ *	$(1,93 \pm 0,18) \times 10^8$
2	Кишечная палочка лактозонегативная	$(5,22 \pm 0,03) \times 10^6$ *	$(2,58 \pm 0,34) \times 10^4$
3	Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i>	<i>Candida</i> Spp $(1,33 \pm 0,07) \times 10^6$ *	$(1,88 \pm 0,13) \times 10^3$
4	Бифидобактерии	$(1,23 \pm 0,47) \times 10^4$ *	$(3,6 \pm 0,8) \times 10^9$
5	Лактобактерии	$(1,33 \pm 0,32) \times 10^3$ *	$(7,6 \pm 1,0) \times 10^7$
6	Другие условно-патогенные бактерии	<i>Proteus mirabilis</i> $(1,23 \pm 0,12) \times 10^5$ *	$(6,3 \pm 1,4) \times 10^3$
7	Неферментирующие бактерии	<i>Aeromonas media</i> $(2,8 \pm 1,0) \times 10^7$ *	$(5,9 \pm 0,9) \times 10^3$
8	Антагонистическая активность аутофлоры	не обладает	обладает

Примечание. * – различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$) по t-критерию Стьюдента.

Выраженное снижение бифидобактерий в экспериментальной группе может быть объяснено их высокой чувствительностью к β -лактамам антибиотикам, к которым относится цефтриаксон. Поскольку бифидобактерии являются грамположительными анаэробами, нарушение синтеза клеточной стенки под действием β -лактамов приводит к их подавлению, что вызывает снижение колонизационной резистентности кишечника.

Снижение лактобактерий также способствует нарушению микробного баланса, поскольку данные микроорганизмы играют ключевую роль в поддержании кислой среды и конкурентного подавления патогенной флоры. В результате ослабления нормофлоры создаются условия для роста условно-патогенных и

оппортунистических микроорганизмов.

Увеличение количества *Candida spp.* в экспериментальной группе может быть связано с устранением бактериальной конкуренции за питательные субстраты и ниши обитания. В норме лактобактерии и бифидобактерии ограничивают рост дрожжеподобных грибов посредством конкуренции и продукции антимикробных факторов. Их подавление приводит к грибковой дисбиоз-ассоциации. Рост *Proteus mirabilis* и *Aeromonas media* также объясняется нарушением микробного баланса и снижением антагонистической активности нормофлоры, что создаёт условия для колонизации и размножения условно-патогенных бактерий.

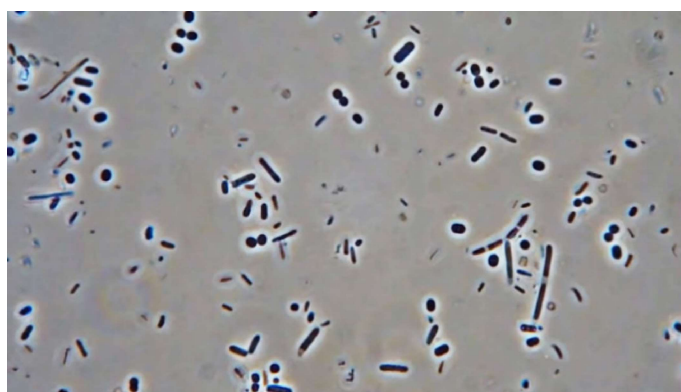


Рис. 1. Микроскопическое изображение бифидобактерий, окраска по Граму, увеличение $\times 1000$, масштабная линейка 10 мкм.

Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Soptop CX40 с иммерсионным объективом $\times 100$ и окраской по Граму. Выявлены грамположительные полиморфные палочковидные бактерии изогнутой и разветвлённой формы, располагающиеся одиночно или V-образно, что характерно для бифидобактерий (рис. 1). Полученные морфологические признаки соответствуют облигатной анаэробной микрофлоре кишечника и подтверждают её участие в формировании нормобиоценоза.

При микроскопии выявлены грамположительные палочковидные микроорганизмы, расположенные цепочками и скоплениями, с вытянутой формой и ровными контурами, характерными для рода *Lactobacillus*.

Морфологические признаки соответствуют облигатной нормальной микрофлоре кишечника, участвующей в поддержании колонизационной резистентности и метаболического гомеостаза (рис. 2).



Рис. 2. Микроскопическое изображение лактобактерий, окраска по Граму, увеличение $\times 1000$, масштабная линейка 10 мкм.

Микроскопическое исследование выявило грам-трицательные полиморфные палочковидные бактерии, расположенные разрозненно, что соответствует

Proteus mirabilis – представителю условно-патогенной микрофлоры, ассоциированному с дисбиотическими нарушениями кишечника (рис. 3).

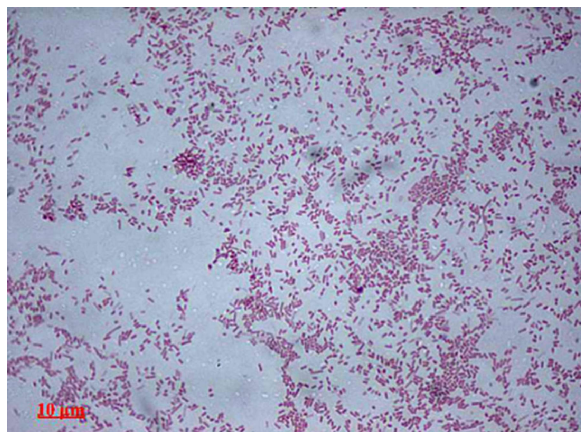


Рис. 3. Микроскопическое изображение *Proteus mirabilis*, окраска по Граму, увеличение $\times 1000$, масштабная линейка 10 мкм.

В ходе исследования проведена оценка чувствительности *Proteus mirabilis* к антибактериальным препаратам различных фармакологических групп. Установлено, что штамм сохраняет высокую чувствительность к большинству исследованных антибиотиков. Наибольшая активность отмечена в отношении ингибиторзащищённых пенициллинов (амоксациллин/клавулановая кислота, ампициллин/сульбактам), цефалоспоринов III–IV поколения (цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, цефепим), аминогликозидов (гентамицин, амикацин), фторхинолонов (левофлоксацин, цiproфлоксацин, офлоксацин, моксифлоксацин, норфлоксацин), а также ко-тримоксазола и хлорамфеникола.

При этом выявлена устойчивость к ампициллину, что может свидетельствовать о наличии механизмов резистентности, вероятно связанных с продукцией β -лактамаз. В целом штамм демонстрирует широкий спектр чувствительности к антибактериальным пре-

паратам при сохранении устойчивости к отдельным β -лактамам (табл. 2).

Штамм сохраняет чувствительность к большинству классов антибиотиков при устойчивости к отдельным β -лактамам, что, вероятно, обусловлено продукцией β -лактамаз, что подтверждается результатами диско-диффузионного метода, демонстрирующего формирование зон ингибирования роста различного диаметра (рис. 4).

Экспериментальный дисбактериоз, индуцированный цефтриаксоном, приводит к выраженным изменениям кишечного микробиоценоза у лабораторных белых крыс, характеризующимся снижением облигатной микрофлоры и увеличением условно-патогенных микроорганизмов. Полученные результаты подтверждают развитие структурных и функциональных нарушений кишечной микробиоты под воздействием антибиотика.

Антибиотикочувствительности *Proteus mirabilis* к антибактериальным препаратам различных групп

№	АНТИБИОТИКИ	Интерпретация результата
	КЛАСС БЕТТА-ЛАКТАМОВ	<i>Proteus mirabilis</i>
	Пенициллины	
1	Пенициллин (Бензилпенициллин)	
2	Ампициллин (Ампик)	устойчив (R)
3	Амоксициллин/клавулановая кислота (Амоксиклав, Камокс-Клав)	чувствителен (S)
4	Ампицил/сульбактам (Бактамед)	чувствителен (S)
	Цефалоспорины	
5	Цефуроксим (Зинацеф)	чувствителен (S)
6	Цефотаксим (Клафоран)	чувствителен (S)
7	Цефтриаксон (Роцефин, Лендацин, Триксон)	чувствителен (S)
8	Цефтазидим (Фортум)	чувствителен (S)
9	Цефоперазон/сульбактам (Сульперазон)	чувствителен (S)
10	Цефепим (Мирапим)	чувствителен (S)
	Цефиксим	
	КЛАСС НЕ БЕТТА - ЛАКТАМОВ	
	Аминогликозиды	
11	Гентамицин (Гарамицин)	чувствителен (S)
12	Амикацин (Амикин, Амикозит)	чувствителен (S)
	Фторхинолоны	
13	Левифлоксацин (Таваник)	чувствителен (S)
14	Ципрофлоксацин (Сифлокс, Ципролет, Цифин)	чувствителен (S)
15	Офлоксацин (Таривид)	чувствителен (S)
16	Моксифлоксацин (Мофацин)	чувствителен (S)
17	Норфлоксацин (Нолицин, Норилет)	чувствителен (S)
	Другие антибиотики	
18	Ко-тримоксазол (Бисептол, Бактрим)	чувствителен (S)
19	Хлорамфеникол (Левомецетин)	чувствителен (S)



Рис. 4. Определение чувствительности *Proteus mirabilis* к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом. Отмечены зоны подавления роста вокруг антибиотических дисков.

ВЫВОДЫ

1. В условиях цефтриаксон-индуцированного дисбактериоза у лабораторных белых крыс выявлены выраженные количественные и качественные изменения кишечного микробиоценоза, сопровождающиеся снижением облигатной микрофлоры (бифидо- и лактобактерий).

2. Отмечено увеличение условно-патогенной и патогенной микрофлоры (*Escherichia coli* лактозо-негативные формы, *Proteus mirabilis*, *Candida spp.*, неферментирующие бактерии), что свидетельствует о развитии выраженного дисбиотического состояния.

3. Микроскопически подтверждено нарушение структуры кишечной микрофлоры с уменьшением грамположительных облигатных и увеличением грамотрицательных условно-патогенных микроорганизмов.

4. Антибиотикограмма *Proteus mirabilis* показала чувствительность к цефалоспорином, аминогликозидам и фторхинолонам при устойчивости к ампициллину, что указывает на наличие β -лактамазной резистентности и подтверждает формирование антибиотик-индуцированного дисбиоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ардатская М. Д. Пробиотики, пребиотики и метабиотики в коррекции микрoэкологических нарушений кишечника / М. Д. Ардатская. – Москва: Медицина. – 2015. – С. 94-99.
2. Кляритская И. Л. Современные концепции применения пробиотиков в гастроэнтерологии / И. Л. Кляритская, Ю. А. Мошко, Е. В. Максимова, Е. О. Шелихова, Ю. С. Работягова // Крымский терапевтический журнал. – 2021. – №1. – С. 9-19.
3. Максимова О. В. Микробиота кишечника и аллергические заболевания / О. В. Максимова, В. Б. Гервазиева, В. В. Зверев // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2014. – Т. 91, №3. – С. 49-60.
4. Тарасова Г. Н. Влияние терапии язвенного колита на бактериальный профиль микробиоты толстой кишки / Г. Н. Тарасова, А. Д. Зубова // Южно-Российский журнал терапевтической практики. – 2023. – №4(3). – С. 22-26.
5. Украинец Р. В. Кишечный микробиоценоз, синдром повышенной кишечной проницаемости (leaky gut syndrome) и новый взгляд на патогенез и возможности профилактики известных заболеваний (обзор литературы) / Р. В. Украинец, Ю. С. Корнева // Медицина. – 2020. – №8(1). – С. 20-33.
6. Успенский Ю. П. Антибиотик-ассоциированная диарея – новая проблема цивилизации / Ю. П. Успенский, Ю. А. Фоминых // Consilium Medicum. – 2012. – Т. 14, №8. – С. 51-56.
7. Lin L. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases / L. Lin, J. Zhang // BMC Immunology. – 2017. – Vol. 18. – P. 2. DOI: 10.1186/s12865-016-0187-3.
8. Bäckhed F. Host-bacterial mutualism in the human intestine / F. Bäckhed, R. E. Ley, J. L. Sonnenburg, D. A. Peterson, J. I. Gordon // Science. – 2005. – V. 307. – P. 1915-1920.
9. Looijer-van Langen M. A. C. Prebiotics in chronic intestinal inflammation / M. A. C. Looijer-van Langen, L. A. Dieleman // Inflamm Bowel Dis. – 2009. – V. 15(3). – P. 454-462.
10. Nagalingam N. A. Role of the microbiota in inflammatory bowel diseases / N. A. Nagalingam, S. V. Lynch // Inflamm Bowel Dis. – 2012. – V. 18(5). – P. 968-980.
11. Oganeseva I. A. Кишечная микробиота и иммунитет: иммуномодулирующие эффекты *Lactobacillus rhamnosus* GG / И. А. Оганесева // ПМЖ. – 2018. – №9. – С. 39-44.
12. Rajilić-Stojanović M. Phylogenetic analysis of dysbiosis in ulcerative colitis during remission / M. Rajilić-Stojanović, F. Shanahan, F. Guarner, W. M. de Vos // Inflamm Bowel Dis. – 2013. – V. 19. – P. 481-488.
13. Wu H. Antibiotic-induced dysbiosis of the rat oral and gut microbiota and resistance to *Salmonella* / H. Wu et al. // Archives of Oral Biology. – 2020. – Vol. 114. – Article 104730. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2020.104730.
14. Xia J. Effects of gut microbiota dysbiosis on the metabolism and pharmacokinetics of losartan in rats: from endogenous to ceftriaxone-induced dysbiosis / J. Xia et al. // Frontiers in Microbiology. – 2025. – Vol. 16. – Article 1693247. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1693247.
15. Zhang Q. Antibiotic-induced gut microbiota dysbiosis damages the intestinal barrier and increases the susceptibility to food allergy / Q. Zhang et al. // Nutrients. – 2021. – Vol. 13(10). – Article 3315. DOI: 10.3390/nu13103315.