

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГА ОСТРОГО ДИСБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ ЦЕФЕПИМ ГИДРОХЛОРИД ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ БЕЛЫХ КРЫС

¹Земцова В. О., veto4ka1710@rambler.ru,

¹Богданов Р. В., к. м. н., 7_rus@tut.by,

¹Шевляков В. В., д. м. н., профессор, shev-vitaliy@mail.ru,

^{1,2}Филонюк В. А., д. м. н., профессор, scienceprorektor@bsmu.by,

¹Емельянова О. А., к. б. н., lee616@ya.ru,

¹Чернышова Е. В., к. м. н., emerald_25@mail.ru,

¹Эрм Г. И., к. б. н., erm-galina@mail.ru,

¹Силич А. И., anya.solodkina@mail.ru

¹Табелева Н. Н., к. м. н., nntabeleva@mail.ru

¹Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь,

²Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

Антибактериальные лекарственные средства (далее – АБЛС) ввиду своих свойств и назначений проявляют непосредственное бактерицидное или бактериостатическое действие на микробиоту кишечника макроорганизма независимо от путей поступления в организм. Поэтому неперенным этапом гигиенического нормирования их содержания в воздухе рабочей зоны является экспериментальное изучение их дисбиотического действия при ингаляционном воздействии на организм с определением пороговой концентрации острого антимикробного действия ($\text{Lim}_{ac\ am}$). С этих позиций

являлось актуальным дать оценку острого дисбиотического действия при ингаляционном пути поступления в организм фармацевтической субстанции нового антибиотика цефепим гидрохлорид (далее – ЦГ).

ЦГ является полусинтетическим цефалоспориновым антибактериальным средством (антибиотик) IV поколения класса Цефалоспоринов, предназначенным для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний. Поскольку механизм бактерицидного действия ЦГ является ингибирование синтеза бактериальной клеточной стенки, то это определяет его широкий спектр активности в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерий и высокий профессиональный риск дисбиотического действия на организм человека [1].

Целью исследования являлась экспериментальная оценка дисбиотического действия фармацевтической субстанции цефепим гидрохлорид при однократном ингаляционном воздействии на организм и определение пороговой концентрации его острого антимикробного действия.

Для изучения ЦГ применяли экспериментальную методику оценки дисбиотического действия и критерии определения порога антибактериального действия АБЛС при ингаляционном воздействии на организм белых крыс, обоснованную и апробированную нами в экспериментах с фармацевтической субстанцией антибиотика клиндамицина гидрохлорида.

Определение порога острого антимикробного действия ЦГ ($Lim_{ac\ am}$) осуществляли при однократном интраназальном воздействии на белых крыс (по 6 особей в каждой группе) в 5 последовательно снижающихся концентрациях (начиная с концентрации, рассчитанной от дозы DL_{50}): 1-я группа – 525 мг/м³, 2-я группа – 105 мг/м³, 3-я группа – 52,5 мг/м³, 4-я группа – 35 мг/м³, 5-я группа – 10,5 мг/м³, две контрольные группы – интраназальное введение дистиллированной воды в стандартной дозе по 0,1 см³.

Влияние ЦГ на микробиоту кишечника животных оценивали микробиологическим исследованием фекалий белых крыс контрольной и опытных групп с определением абсолютного (КОЕ/г) и относительного в логарифмах (Ig КОЕ/г) количества бифидобактерий, кишечной палочки, золотистого стафилококка, фекальных энтерококков, лактозонегативных условно-патогенных грамотрицательных бактерий, клостридий – до затравки (фон), через сутки после воздействия и через 6 суток после него (восстановительный период).

За пороговую принимали минимальную концентрацию АБЛС, на которую установлено умеренно выраженное дисбиотическое действие – дисбактериальная реакция, характеризующаяся статистически значимым ($p < 0,05$) изменением после однократного ингаляционного воздействия у опытных животных 1-2 бактериологических показателей количественного состава микрофлоры кишечника по сравнению с параллельным контролем, но их величины находятся в пределах физиологической нормы (фона) и нормализуются после восстановительного периода.

Поскольку величины относительного коэффициента массы слепой кишки (далее – ОКМск) имеют прямую корреляционную связь с составом микрофлоры кишечника и являются показателем клинического проявления дисбактериоза при оральном и парентеральном применении антибиотиков [2], дополнительно определяли данный показатель у опытных и контрольных животных через 1 и 6 суток после острого ингаляционного воздействия ЦГ.

Манипуляции с грызунами проводили в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [3], и на основании разрешения, выданного комиссией по биоэтике республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены» № 2 от 29.03.2022.

Результаты исследования подвергались статистической обработке общепринятыми методами токсико- и биометрии, параметрической и непараметрической статистики в сравнении величин опыта и контроля с использованием лицензионного программного обеспечения Microsoft Excel 2021 и Statistica 13 (StatSoft, США).

Результатами эксперимента установлено (таблица 1), что исходное содержание микроорганизмов в микрофлоре кишечника белых крыс в опытах с ЦГ существенно различалось с контрольными животными, особенно в 3-й группе, в которой установлено снижение в посевах фекалий белых крыс количества бифидобактерий ($p < 0,01$), золотистого стафилококка ($p < 0,05$) и лактозонегативных грамотрицательных бактерий ($p < 0,001$).

Причем фоновое количество кишечной палочки в микрофлоре кишечника животных всех трех опытных групп было значительно ниже (в 2,1–2,4 раза, $p < 0,001$) по сравнению с контролем, что отразилось и на низком содержании у опытных животных *Escherichia coli* после однократного ингаляционного воздействия ЦГ.

Таблица 1 – Количественная характеристика микрофлоры кишечника белых крыс до и после острого ингаляционного воздействия цефепима гидрохлорид в изученных высоких концентрациях

Изучаемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов (M ± m lg КОЕ/г) в группах сравнения (n = 6 в каждой)			
		Контрольная группа	1-я опытная группа 525 мг/м³	2-я опытная группа 105 мг/м³	3-я опытная группа 52,5 мг/м³
Бифидобактерии	фон после ингал.	10,00 ± 0,11	10,20 ± 0,53	10,40 ± 0,37	8,54 ± 0,32**
		11,10 ± 0,20	11,10 ± 0,15	10,51 ± 0,26	11,15 ± 0,12
Кишечная палочка	фон после ингал.	7,16 ± 0,21	3,39 ± 0,39***	3,00 ± 0,00***	3,23 ± 0,23***
		6,98 ± 0,21	3,92 ± 0,34***	5,59 ± 0,39**	4,49 ± 0,23***
Золотистый стафилококк	фон после ингал.	6,13 ± 0,18	5,76 ± 0,26	5,76 ± 0,37	5,01 ± 0,33*
		4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,20 ± 0,10	4,00 ± 0,00
Энтерококки	фон после ингал.	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
		4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
Лактозонегативные Г- бактерии	фон после ингал.	6,16 ± 0,15	6,41 ± 0,31	6,31 ± 0,09	4,54 ± 0,25***
		5,55 ± 0,19	4,08 ± 0,08***	5,39 ± 0,14	4,10 ± 0,10***
Клостридии	фон после ингал.	6,89 ± 0,13	7,21 ± 0,10	7,01 ± 0,22	7,22 ± 0,11
		7,00 ± 0,07	7,15 ± 0,12	7,29 ± 0,08*	7,32 ± 0,09*
* достоверные различия с контролем при p < 0,05 по критерию t; ** достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию t; *** достоверные различия с контролем при p < 0,001 по критерию t.					

Однократное ингаляционное воздействие препарата вызывало существенное снижение в микробиоте кишечника животных 1-й и 3-й опытных групп содержания лактозонегативных грамотрицательных бактерий ($p < 0,001$), а во 2-й и 3-й группах – возрастание количества клостридий ($p < 0,05$) по отношению к их величинам в контрольной группе белых крыс.

Следует отметить, что величины содержания кишечной палочки у опытных животных были даже ниже предела физиологических колебаний ($\pm 2\sigma$) среднегруппового значения этого показателя у контрольных животных (5,95 lg КОЕ/г).

Величины относительного коэффициента массы слепой кишки (далее – ОКМск) у животных всех опытных групп после воздействия ЦГ также были повышены в 1,43–1,67 раза ($p < (0,05–0,01)$) по сравнению с контролем (таблица 2).

Таблица 2 – Величины ОКМск белых крыс после острого ингаляционного действия цефепима гидрохлорид в 3 изученных высоких концентрациях

Изучаемая фармацевтическая субстанция антибиотика	ОКМск ($M \pm m$) в группах сравнения (n = 6 в каждой)			
	Контрольная группа	1-я опытная группа 525 мг/м ³	2-я опытная группа 105 мг/м ³	3-я опытная группа 52,5 мг/м ³
Цефепим гидрохлорид	1,30 $\pm$ 0,095	2,17 $\pm$ 0,32*	2,00 $\pm$ 0,16**	1,86 $\pm$ 0,09**
* достоверные различия с контролем при $p < 0,05$ по критерию t; ** достоверные различия с контролем при $p < 0,01$ по критерию t.				

В дополнительно выполненном эксперименте при последовательном снижении ингалируемой концентрации ЦГ в 2 и 5 раз по отношению к минимальной испытанной (на уровне 35 и 10,5 мг/м³) у опытных животных 4-й и 5-й групп не было выявлено статистически значимых сдвигов всех изученных бактериологических показателей микробиоты кишечника во все сроки исследований по сравнению с их величинами в контрольной группе белых крыс (таблица 3).

Таблица 3 – Количественная характеристика микрофлоры кишечника белых крыс после острого ингаляционного воздействия цефепима гидрохлорид в изученных низких концентрациях

Изучаемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов ($M \pm m$ lg КОЕ/г) в группах сравнения (n = 6 в каждой)		
		Контрольная группа	4-я опытная группа 35 мг/м ³	5-я опытная группа 10,5 мг/м ³
Бифидобактерии	фон	9,03 ± 0,08	8,84 ± 0,12	8,55 ± 0,32
	после ингал.	9,03 ± 0,08	9,09 ± 0,04	8,69 ± 0,17
	восст. период	9,03 ± 0,08	8,97 ± 0,02	8,69 ± 0,16
Кишечная палочка	фон	6,02 ± 0,07	5,87 ± 0,04	5,95 ± 0,09
	после ингал.	6,02 ± 0,07	6,03 ± 0,06	5,97 ± 0,04
	восст. период	6,02 ± 0,07	6,01 ± 0,04	5,95 ± 0,27
Золотистый стафилококк	фон	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
	после ингал.	4,00 ± 0,00	4,22 ± 0,11	4,10 ± 0,06
	восст. период	4,00 ± 0,00	4,15 ± 0,07	4,10 ± 0,06
Энтерококки	фон	5,05 ± 0,01	5,09 ± 0,05	5,00 ± 0,01
	после ингал.	5,05 ± 0,01	5,05 ± 0,02	5,04 ± 0,01
	восст. период	5,05 ± 0,01	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00
Лактозонегативные Г– бактерии	фон	6,10 ± 0,17	5,95 ± 0,08	5,91 ± 0,33
	после ингал.	6,10 ± 0,17	6,01 ± 0,07	6,03 ± 0,21
	восст. период	6,10 ± 0,17	5,98 ± 0,07	5,90 ± 0,16
Клостридии	фон	7,92 ± 0,10	8,26 ± 0,23	8,04 ± 0,09
	после ингал.	7,92 ± 0,10	8,27 ± 0,22	8,15 ± 0,08
	восст. период	7,92 ± 0,10	8,14 ± 0,16	8,12 ± 0,06

Также не установлено существенных изменений массы тела и величин ОКМск у опытных животных обеих групп после завершения воздействия и после восстановительного периода (6 суток) по сравнению с белыми крысами контрольной группы (таблица 4). Следовательно, в данных концентрациях ЦГ не проявлял дисбиотического действия на организм белых крыс.

Таблица 4 – Влияние острого ингаляционного действия ЦГ в снижающихся концентрациях на массу тела и относительные коэффициенты массы слепой кишки белых крыс

Изучаемые показатели, единицы измерения	Время изучения, сутки	Группы сравнения, Ме (LQ–UQ)		
		Контрольная группа n = 6	4-я опытная группа ЦГ – 35 мг/м ³ n = 6	5-я опытная группа ЦГ – 10,5 мг/м ³ n = 6
Масса тела, кг ⁻³	Исходная	196,3 (192–200)	198,8 (196–202)	201,0 (198–204)
	1	196,3 (192–200)	198,8 (196–202)	201,0 (198–204)
	6	206,7 (200–210)	207,5 (204–212)	206,2 (200–212)
ОКМ слепой кишки	1	1,57 (1,32–1,72)	1,43 (1,34–1,53)	1,44 (1,37–1,53)
	6	1,46 (1,36–1,52)	1,45 (1,37–1,57)	1,46 (1,32–1,6)

Таким образом, установлена минимальная концентрация однократного ингаляционного воздействия ЦГ на уровне 52,5 мг/м³, еще вызывающая развитие у опытных белых крыс дисбактериоза, характеризующегося статистически значимым изменением у опытных животных трех бактериологических показателей 1-й и 2-й категорий, один из которых выходил за пределы физиологических колебаний. Тогда как на испытанные низкие (в 2 и 5 раз) концентрации ЦГ существенные изменения показателей микробиоты кишечника опытных белых крыс не установлены. Следовательно, концентрацию однократного ингаляционного воздействия ЦГ на уровне 52,5 мг/м³ следует признать пороговой по острому антимикробному действию на организм белых крыс.

Литература

1. Цефепим (Cefepimum) [Электронный ресурс] // Регистр лекарственных средств России. – Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/drugs/cefepim-31230>. – Дата доступа: 03.02.2022.
2. Постановка исследований для обоснования предельно допустимых концентраций антибиотиков в воздухе рабочей зоны : метод. указания № 5051-89 : утв. зам. гос. сан. врача СССР от 18.06.1989 / М-во здравоохран. СССР. – М., 1989. – 22 с.
3. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ETS № 123 / Совет Европы (Страсбург, 18 марта 1986 г.). – Страсбург, 1986. – 13 с.

Поступила 11.09.2024

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГИГИЕНЫ, ТОКСИКОЛОГИИ,
ЭПИДЕМИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ
ГОСУДАРСТВЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ
И ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ» (НИИ ГТ ЭВМ РЦГЭиОЗ)
ОБЩЕСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
«НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ГИГИЕНИСТОВ»

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА»**

5–6 декабря 2024 года, г. Минск

Гомель
Редакция газеты «Гомельская праўда»
2024