

6. Vlasenko E. K., Voitovich A. M., Grynchak V. A. et al. Study of the mutagenic activity of 5-aminolevulinic acid hexyl ester in in vitro tests. In: Sychik S.I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda (Health and environment): Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene*. Vol. 2. Iss. 25. Minsk; 2015: 79–82. (in Russian).

e-mail для переписки: n\_dudchik@mail.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 615.3:579.6:613.63

*Земцова В. О., Богданов Р. В., Шевляков В. В., Филонюк В. А.<sup>1</sup>, Емельянова О. А.,  
Эрм Г. И., Чернышова Е. В., Студеничник Т. С., Силич А. И.*

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО, АЛЛЕРГИЧЕСКОГО И ДИСБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ КЛИНДАМИЦИНА ГИДРОХЛОРИД ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОМ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**

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

*<sup>1</sup> Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Аннотация.** Обязательными параметрами для обоснования ПДК в воздухе рабочей зоны фармацевтической субстанции антибиотика клиндамицина гидрохлорид (далее – КГ) является определение его пороговых концентраций токсического, аллергического и дисбиотического действия при субхроническом ингаляционном воздействии на организм белых крыс, что определило актуальность и цель настоящих экспериментальных исследований.

Установлено, что при ингаляционном воздействии в течение месяца на организм белых крыс концентрации КГ на уровне 275 и 55 мг/м<sup>3</sup> являлись эффективными по токсическому и аллергическому действию на организм, а концентрация на уровне 27,5 мг/м<sup>3</sup> определена как пороговая субхронического токсического действия по лимитирующему показателю наличия лейкоцитов в моче и пороговая хронического аллергического действия ( $Lim_{ch\,al}$ ) по лимитирующему показателю сенсibilизации по гиперчувствительности замедленного типа.

КГ после одного месяца ингаляционного воздействия в испытанных 4-х последовательно снижающихся концентрациях вызывал у белых крыс опытной группы развитие дисбактериоза, характеризующегося существенными сдвигами нескольких индикаторных показателей количественного состава микробиоты кишечника, которые нормализовались после восстановительного периода в течение месяца. Минимальная концентрация КГ на уровне 13,5 мг/м<sup>3</sup>, еще вызывающая умеренно выраженные дисбактериальные реакции, обоснована как пороговая хронического ингаляционного дисбиотического действия на организм ( $Lim_{ch\,am}$ ), а на уровне 5,5 мг/м<sup>3</sup> – недействующая концентрация.

**Ключевые слова:** фармацевтическая субстанция антибиотика клиндамицина гидрохлорид, субхроническое ингаляционное воздействие, пороговые концентрации токсического, аллергического и дисбиотического действия на организм.

**Введение.** Загрязнение воздуха рабочей зоны аэрозолями антибактериальных лекарственных средств (далее – АБЛС) представляет высокий риск развития у работников профессиональных и производственно обусловленных заболеваний, поскольку АБЛС могут проявлять общетоксическое и специфическое дисбиотическое и аллергическое вредное действие на организм. Так, например, установлено, что изучаемая фармацевтическая субстанция антибиотика клиндамицина гидрохлорид обладает токсичностью в острых и субхронических опытах [1], дифференцирована как сильный промышленный аллерген и отнесена к 1 классу аллергенной опасности [2], вызывает развитие дисбактериальных реакций в организме при однократной ингаляции. Основной мерой профилактики вредного действия АБЛС и, в частности, КГ, является обоснование их ПДК в воздухе рабочей зоны (далее – ПДКврз). При этом для их установления обязательным параметром является установление пороговых концентраций

токсического, аллергического и дисбиотического действия при субхроническом ингаляционном воздействии на организм белых крыс, что определило актуальность таких экспериментальных исследований в отношении КГ.

**Цель работы** – установить пороговые концентрации токсического, аллергического и дисбиотического действия фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид при субхроническом ингаляционном воздействии на организм белых крыс.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлась фармацевтическая субстанция антибиотика клиндамицина гидрохлорид. Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с инструктивно-методическими документами, утвержденными Министерством здравоохранения Республики Беларусь [3–6].

Определение лимитирующих показателей и порогов субхронического ингаляционного токсического, антимикробного ( $Lim_{ch\ am}$ ) и аллергического действия ( $Lim_{ch\ al}$ ) КГ проводили по [4, 5] в одном эксперименте при интраназальном введении белым крысам в стандартной дозе препарата (по 0,1 см<sup>3</sup> раствора) ежедневно 5 раз в неделю в течение 1 месяца в 3-х расчетных концентрациях КГ: 1 опытная группа – 275 мг/м<sup>3</sup>, 2 опытная группа – 55 мг/м<sup>3</sup>, 3 опытная группа – 27,5 мг/м<sup>3</sup>; дополнительно для установления порога дисбиотического действия выполнены ингаляционные опыты в более низких концентрациях КГ на уровне 13,5 и 5,5 мг/м<sup>3</sup>; животным 2-х контрольных групп аналогично вводили по 0,1 мл дистиллированной воды.

После завершения эксперимента у животных всех групп определяли комплекс показателей (физиологические, относительные коэффициенты внутренних органов (далее – ОКМ), гематологические и биохимические показатели сыворотки крови, показатели мочевыделительной системы и другие, возможно отражающие развитие в организме интоксикации [4].

Оценку аллергического действия препарата проводили по результатам определения у животных опытных и контрольных групп показателей активной кожной анафилаксии (далее – АКА) и гиперчувствительности замедленного типа (далее – ГЗТ) при постановке внутрикожного теста опухания лапы (далее – ВТОЛ) через 1 и 24 часа после провокационной внутрикожной пробы с разрешающей дозой препарата [4].

Оценку антимикробного действия КГ проводили по количественной характеристике индикаторных показателей микробиоты кишечника при бактериологическом исследовании фекалий животных (по 6 особей каждой группы) до (фон), через 2 недели и после 30 дней эксперимента, через 1 месяц после его окончания (восстановительный период) [6].

Условия содержания, обращения, проведения экспериментов и выведения лабораторных животных из опыта соответствовали правилам гуманного отношения к животным в соответствии с принципами Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986), Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза (2010) по охране животных, используемых в научных целях.

Результаты исследования подвергались статистической обработке общепринятыми методами параметрической и непараметрической статистики с использованием лицензионного программного обеспечения Microsoft Excel 2021 (Microsoft, США) и Statistica 13 (StatSoft, США). В качестве критерия достоверности различий между сравниваемыми показателями принимали уровень значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования токсического и аллергического действия КГ после завершения субхронического ингаляционного эксперимента приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Морфофункциональные показатели белых крыс после субхронического ингаляционного воздействия клиндамицина гидрохлорида в снижающихся концентрациях

Изучаемые показатели, единицы измерения	Группы сравнения, n = 10, Me ( $Q_{25}$ – $Q_{75}$ )			
	контрольная группа	1 опытная группа КГ – 275 мг/м <sup>3</sup>	2 опытная группа КГ– 55 мг/м <sup>3</sup>	3 опытная группа КГ – 27,5 мг/м <sup>3</sup>
Физиологические показатели				
Масса тела, кг <sup>-3</sup>	202,88 (184–337)	194,5 (181–204)	208,88 (198–228)	196,88 (184–216)
Суммационно-пороговый показатель, вольт	0,60 (0,60–0,60)	0,64 (0,62–0,65)	0,67 (0,65–0,69)	0,62 (0,61–0,64)
Частота сердечных сокращений, уд. в мин	443,5 (428,0–458)	451,0 (420,0–482,0)	454,5 (435,0–473,5)	441,1 (413,2–469,4)

Изучаемые показатели, единицы измерения	Группы сравнения, n = 10, Me (Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )			
	контрольная группа	1 опытная группа КГ – 275 мг/м <sup>3</sup>	2 опытная группа КГ– 55 мг/м <sup>3</sup>	3 опытная группа КГ – 27,5 мг/м <sup>3</sup>
Артериальное давление, мм рт. ст.	107,5 (90,3–124,5)	109,3 (97,7–121,5)	114,1 (92,5–136,1)	112,8 (98,7–126,3)
Относительные коэффициенты массы (ОКМ) внутренних органов, кг <sup>3</sup> /кг:				
Почки	0,67 (0,4–0,82)	0,73 (0,63–0,87)	0,74 (0,66–0,83)	0,76 (0,68–0,87)
Печень	3,37 (2,99–3,84)	3,55 (3,06–4,01)	3,51 (3,20–3,93)	3,59 (2,96–3,92)
Сердце	0,37 (0,25–0,52)	0,37 (0,28–0,45)	0,39 (0,3–0,53)	0,41 (0,34–0,52)
Селезенка	0,61 (0,5–0,78)	0,58 (0,28–0,8)	0,57 (0,41–0,76)	0,57 (0,37–0,97)
Легкие	0,91 (0,68–1,19)	0,85 (0,61–1,33)	0,89 (0,0,6–1,22)	0,81 (0,36–1,08)
Гематологические показатели периферической крови				
Гемоглобин, г/л	147,6 (135,0–161,0)	155,5 (141,0–164,0)	142,8 (129,0–158,0)	152,1 (140,0–171,0)
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	7,35 (6,16–8,04)	7,05 (6,13–7,95)	6,76 (6,26–7,14)	7,12 (6,47–7,72)
Сред. объем эритроцитов (эр.)	48,66 (19,80–60,20)	55,55 (50,8–66,4)	53,86 (52,6–54,8)	52,26 (44,2–55,7)
Сред. концентрация гемоглобина в эр.	389,9 (379,0–400,0)	401,3*** (395,0–414,0)	398,3* (394,0–403,0)	392,0 (382,0–407,0)
Распределение эр., CV	15,4 (13,6–16,7)	14,6 (13,9–15,8)	14,79 (13,9–17,8)	14,9 (13,7–16,2)
Распределение эр., SD	27,8 (26,0–32,3)	28,58 (26,10–32,2)	28,09 (26,1–32,1)	27,99 (26,1–30,0)
Гематокрит, усл. ед.	0,378 (0,343–0,414)	0,389 (0,358–0,407)	0,364 (0,335–0,388)	0,382 (0,351–0,426)
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	711,6 (570,0–1019,0)	758,0 (578,0–982,0)	767,6 (610,0–934,0)	798,3 (621,0–928,0)
Сред. объем тромбоцитов в крови	6,89 (6,50–7,50)	6,83 (6,50–7,20)	6,61 (6,1–7,00)	6,68 (6,30–7,10)
Тромбоцитарная масса, %	0,487 (0,407–0,652)	0,515 (0,416–0,638)	0,506 (0,403–0,603)	0,530 (0,435–0,624)
Распределение тромбоцитов	14,81 (13,20–16,10)	14,78 (13,20–15,90)	14,48 (13,50–15,40)	14,06 (13,40–14,90)
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	12,66 (8,3–15,3)	13,56 (9,8–17,8)	13,79 (6,6–22,2)	10,51 (7,0–18,9)
Морфологический состав лейкоцитов				
Лимфоциты, %	72,9 (47,6–85,3)	77,43 (68,1–82,2)	77,16 (57,6–89,9)	69,3 (49,1–79,1)
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	9,31 (5,2–13,1)	10,56 (7,8–14,3)	11,06 (5,00–17,9)	7,13 (4,6–9,7)
Моноциты, %	12,5 (8,5–18,0)	16,1 (10,2–14,5)	11,1 (7,9–17,0)	11,8 (8,2–14,5)
Моноциты, 10 <sup>9</sup> /л	1,55 (1,1–2,2)	1,81 (1,1–5,1)	1,45 (0,9–1,9)	1,6 (0,9–2,7)
Гранулоциты, %	12,5 (8,5–18,0)	16,1 (10,2–26,9)	11,83 (8,2–14,5)	11,1 (7,9–17,0)
Гранулоциты, 10 <sup>9</sup> /л	1,84 (0,8–5,1)	1,63 (0,9–4,5)	1,53 (1,0–2,1)	1,13 (0,7–1,7)
Биохимические показатели сыворотки крови				
Лактатдегидрогеназа, Ед/л	1292,0 (1264–2224)	2081,63 (1650–2283)	2106,4 (1662–2268)	2158,3 (2034–2214)
Щелочная фосфатаза, Ед/л	201,4 (115,5–311,5)	242,2 (140,4–368,7)	242,2 (140,4–368,7)	244,4 (150,3–303,1)

Изучаемые показатели, единицы измерения	Группы сравнения, n = 10, Ме (Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )			
	контрольная группа	1 опытная группа КГ – 275 мг/м <sup>3</sup>	2 опытная группа КГ– 55 мг/м <sup>3</sup>	3 опытная группа КГ – 27,5 мг/м <sup>3</sup>
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	50,15 (30,0–78,3)	61,69 (17,1–85,8)	56,96 (38,7–84,4)	53,66 (25,6–78,8)
Аспаратаминотрансфераза, Ед/л	6,04 (1,00–16,7)	7,29 (1,70–21,1)	5,01 (0,50–11,1)	4,20 (0,90–10,40)
Кальций, мкмоль/л	3,08 (2,37–4,01)	3,03 (2,57–3,51)	2,97 (2,55–3,92)	2,78 (2,39–3,28)
Железо, мкмоль/л	39,30 (25,63–49,49)	55,94** (42,2–75,56)	50,87* (32,2–68,2)	44,39 (20,81–63,63)
Глюкоза, ммоль/л	7,62 (6,47–8,49)	7,63 (7,07–8,19)	8,00 (7,38–9,7)	8,15 (7,53–9,24)
Общий белок, г/л	72,53 (62,0–75,60)	77,38* (72,0–84,5)	71,83 (68,7–75,2)	71,67 (68,7–75,2)
Альбумин, г/л	32,51 (26,0–38,3)	32,58 (30,5–35,3)	32,30 (26,9–38,9)	34,11 (30,4–38,9)
Мочевая кислота, мкмоль/л	86,13 (50,00–135,0)	249,25*** (172,0–320,0)	93,00 (60,00–127,00)	68,25 (0,00–123)
Мочевина, ммоль/л	5,93 (4,10–12,87)	5,58 (4,13–10,1)	5,51 (4,79–6,61)	4,98 (4,42–5,59)
Креатинин, ммоль/л	29,9 (4,40–38,8)	29,5 (23,9–36,4)	30,7 (19,0–42,1)	37,4 (23,8–10,4)
Холестерина, моль/л	1,74 (1,53–2,10)	1,70 (1,42–1,97)	1,72 (1,42–1,97)	1,88 (1,37–2,05)
Мочевыделительная система (показатели мочи)				
рН мочи	6,69 (6,5–7,0)	6,44 (6,0–7,0)	6,63 (6,5–7,0)	6,69 (6,5–7,0)
Удельная масса мочи	1,015 (1,012–1,018)	1,019* (1,015–1,028)	1,017 (1,011–1,028)	1,015 (1,011–1,02)
Содержание белка, г/л	0,0	0,0	0,0	0,0
Содержание глюкозы, мг/дл	0,0	0,0	0,0	0,0
Кол. лейкоцитов, в 1 мкл мочи	0,0	43,75*** (25,0–75,0)	28,13** (0,0–75,0)	25,0*** (25,0–25,0)
Билирубин, мг / 100 мл	0,0	20,63* (0,0–50,0)	0,94 (0,0–7,5)	0,0
Аскорбиновая кислота, г/л	0,0	0,0	0,0	0,0
Аллергологические показатели при внутрикожном тестировании КГ (M ± m)				
ВТОЛ:				
– АКА 10 <sup>-2</sup> мм	18,3 ± 2,96	31,6 ± 7,79	24,1 ± 6,21	16,9 ± 4,56
– ГЗТ 10 <sup>-2</sup> мм	11,8 ± 1,79	43,7 ± 7,58***	25,5 ± 7,01 <sup>0</sup>	16,9 ± 3,92
Н	7/10	10/10	8/10	7/10
Балл	0,70 ± 0,15	3,90 ± 0,46***, 1)	1,80 ± 0,51 <sup>0</sup>	1,30 ± 0,37
* достоверные различия с контролем при p < 0,05 по критерию U или t; ** достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию U или t; *** достоверные различия с контролем при p < 0,001 по критерию U или t; <sup>0</sup> статистическая тенденция различия с контролем при p < 0,1 по критерию U или t; 1) достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию «X». Примечание – Н – числитель – количество животных с положительными результатами, знаменатель – всего в группе.				

Изученные физиологические показатели (масса тела, суммационно-пороговый показатель, частота сердечных сокращений, артериальное давление) белых крыс опытных групп не имели существенных различий с таковыми в контрольной группе как до (фоновые, исходные), так и после завершения ингаляционного воздействия в течение месяца. Не установлены также достоверные различия величин относительных коэффициентов массы внутренних органов опытных животных всех групп по сравнению с таковыми у группы контрольных белых крыс.

Определено существенное возрастание средней концентрации гемоглобина в эритроцитах животных 1 опытной группы ( $p < 0,001$ ) и 2 опытной группы ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем при средних величинах показателей содержания гемоглобина и количества эритроцитов в периферической крови, среднего объема эритроцитов в пределах их колебаний у белых крыс контрольной группы. Причем все другие изученные гематологические показатели периферической крови, а также все абсолютные и относительные показатели морфологического состава лейкоцитов (лейкоцитарная формула) у белых крыс опытных групп отличались от таковых у контрольных животных.

У животных опытных групп не выявлены по отношению к контролю значимые сдвиги биохимических показателей сыворотки крови, характеризующие метаболические функции гепатобилиарной сферы (активность ферментов лактатдегидрогеназы, аланин- и аспаратаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, содержание глюкозы), азотистый и липидный обмен (содержание мочевины, креатинина, холестерина).

Однако у животных 1 опытной группы установлено увеличение в сыворотке крови концентрации железа на 42,3 % ( $p < 0,01$ ), содержания общего белка на 6,7 % ( $p < 0,05$ ) и особенно содержания мочевой кислоты (в 2,9 раза,  $p < 0,001$ ), нарушение мочевыделительной функции почек, проявляющееся высокими показателями удельной массы мочи ( $p < 0,05$ ), содержания билирубина ( $p < 0,05$ ) и количества лейкоцитов в моче ( $p < 0,001$ ) по сравнению с их величинами у контрольных животных. У опытных белых крыс 2 группы в сыворотке крови определено только существенное возрастание концентрации железа на 29,4 % ( $p < 0,05$ ), а у животных 2 и 3 групп – высокое по отношению к контролю количество лейкоцитов в моче ( $p < 0,01$  и  $p < 0,001$  соответственно), но средние величины всех других изученных показателей мочи находились в пределах колебания контроля.

Следовательно, концентрации КГ на уровне 275 и 55 мг/м<sup>3</sup> при субхроническом ингаляционном воздействии на белых крыс являются эффективными по токсическому действию на организм, а концентрация на уровне 27,5 мг/м<sup>3</sup> по лимитирующему показателю количества лейкоцитов в моче является пороговой.

Внутрикожным провокационным тестированием КГ животных всех опытных групп не установлено существенного формирования в их организме аллергической реакции немедленного анафилактического типа, поскольку величины активной кожной анафилаксии (далее – АКА) не имели значимых различий с контролем. В то же время величины абсолютного показателя ВТОЛ (через 24 часа после тестирования) превышали у белых крыс 1 опытной группы в 3,7 раза ( $p < 0,001$ ), а у животных 2 опытной группы в 2,16 раз ( $p < 0,1$ ) таковые в контрольной группе. Следовательно, ингаляционное воздействие КГ особенно в высоких концентрациях вызывало развитие у животных опытных групп клеточно-опосредованной аллергической реакции замедленного типа. Это подтверждалось высокими величинами интегрального показателя ВТОЛ, особенно у животных 1 и 2 опытных групп, превышающими таковую в контрольной группе соответственно в 5,57 раза ( $p < 0,001$ ) и в 2,57 раза ( $p < 0,1$ ).

Следует отметить достаточно высокую частоту положительной тест-реакции выраженностью в 1 балл у интактных контрольных животных (7 из 10), что свидетельствует о неспецифическом их характере. Однако положительные кожные тест-реакции регистрировались у 10 из 10 опытных животных 1 группы с выраженностью 2–5 баллов у 9 из них (величина статистического критерия  $X = 6,726$ ,  $p < 0,01$ ), у белых крыс 2 опытной группы частота положительных тест-реакций составляла 8 из 10, а с выраженностью 2–5 баллов у 5 из них (но  $X = 3,38$ ,  $p > 0,05$ ). Даже из 7 животных 3 опытной группы с положительной кожной реакцией отмечена у 4 с выраженностью 2–3 балла.

Таким образом, ингалируемые концентрации КГ на уровне 275 и 55 мг/м<sup>3</sup> являются эффективно действующими по аллергическому эффекту, а концентрация КГ на уровне 27,5 мг/м<sup>3</sup> с учетом критериев нормирования аллергоопасных промышленных аэрозолей [4] может быть определена как пороговая по хроническому специфическому аллергическому действию на организм ( $Lim_{ch.al}$ ), поскольку вызывала развитие в организме 40 % опытных белых крыс выраженной ГЗТ без существенных различий средних величин интегрального показателя ВТОЛ в опытной и контрольной группах.

Фоновая количественная характеристика микробиоты кишечника белых крыс в опытных группах не имела существенных различий от таковой в контрольной группе (таблица 2).

Таблица 2 – Количественная характеристика микробиоты кишечника белых крыс до, через 2 недели, после завершения месячного ингаляционного воздействия клиндамицина гидрохлорида в изученных концентрациях и после восстановительного периода (1 месяц)

Исследуемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов в группах сравнения (n = 6 на каждом измерении, M ± m lg КОЕ/г)			
		контрольная группа	1 опытная группа 275 мг/м <sup>3</sup>	2 опытная группа 55 мг/м <sup>3</sup>	3 опытная группа 27,5 мг/м <sup>3</sup>
Бифидобактерии	фон	9,08 ± 0,10	8,98 ± 0,15	8,98 ± 0,08	8,93 ± 0,19
	2 нед. ингал.	9,24 ± 0,11	7,68 ± 0,36**	8,26 ± 0,27**	8,77 ± 0,23
	1 мес. игал.	9,65 ± 0,10	9,46 ± 0,16	9,02 ± 0,06**	8,82 ± 0,11**
	восст. период	9,07 ± 0,10	8,99 ± 0,17	8,97 ± 0,70	8,81 ± 0,25
Кишечная палочка	фон	7,07 ± 0,20	7,17 ± 0,21	7,12 ± 0,26	7,13 ± 0,18
	2 нед. ингал.	7,05 ± 0,20	5,85 ± 0,26**	5,90 ± 0,21**	5,93 ± 0,27**
	1 мес. игал.	5,98 ± 0,12	6,65 ± 0,16*	4,00 ± 0,00**	4,00 ± 0,00**
	восст. период	5,87 ± 0,40	6,02 ± 0,12	6,01 ± 0,07	5,77 ± 0,24
Золотистый стафилококк	фон	5,97 ± 0,11	5,91 ± 0,13	5,69 ± 0,14	6,04 ± 0,16
	2 нед. ингал.	5,62 ± 0,13	5,69 ± 0,12	5,47 ± 0,12	5,53 ± 0,13
	1 мес. игал.	5,00 ± 0,00	7,64 ± 0,27**	6,83 ± 0,40**	6,14 ± 0,31**
	восст. период	5,00 ± 0,00	5,68 ± 0,032	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00
Энтерококки	фон	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
	2 нед. ингал.	5,88 ± 0,17	5,22 ± 0,36	5,70 ± 0,19	5,81 ± 0,18
	1 мес. игал.	7,96 ± 0,08	7,40 ± 0,20*	7,68 ± 0,21	7,85 ± 0,24
	восст. период	7,64 ± 0,08	7,87 ± 0,09	7,39 ± 0,13	7,39 ± 0,14
Лактозонегативные Г-бактерии	фон	6,33 ± 0,11	6,1 ± 0,12	6,06 ± 0,20	6,37 ± 0,15
	2 нед. ингал.	5,94 ± 0,10	5,23 ± 0,23*	5,81 ± 0,17	5,91 ± 0,18
	1 мес. игал.	6,38 ± 0,12	7,93 ± 0,11**	7,32 ± 0,42**	7,33 ± 0,09**
	восст. период	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00
Клостридии	фон	6,79 ± 0,15	7,26 ± 0,15	7,16 ± 0,25	7,19 ± 0,16
	2 нед. ингал.	7,00 ± 0,72	6,9 ± 0,28	6,57 ± 0,31	7,19 ± 0,12
	1 мес. игал.	7,92 ± 0,10	9,29 ± 0,12**	8,86 ± 0,19**	8,53 ± 0,21**
	восст. период	8,00 ± 0,00	8,00 ± 0,00	8,00 ± 0,00	8,00 ± 0,00

\* достоверные различия с контролем при p < 0,05 по критерию U;  
\*\* достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию U.

Двухнедельное ингаляционное воздействие КГ в высокой концентрации сопровождалось существенным снижением в микробиоте кишечника животных 1 опытной группы содержания бифидобактерий и кишечной палочки на фоне возрастания количества лактозонегативных грамотрицательных бактерий по сравнению с контролем (p < 0,01).

При увеличении экспозиции воздействия КГ до 1 месяца отмечена у опытных животных нормализация содержания в кишечнике бифидобактерий до величин контроля при значительном возрастании количества условно-патогенной микрофлоры – *E. coli* и *S. aureus*, лактозонегативных грамотрицательных бактерий и клостридий (p < 0,01) на фоне снижения содержания энтерококков (p < 0,05) по отношению к их содержанию в кишечнике белых крыс контрольной группы.

На более низкую ингалируемую в течение 2-х недель концентрацию КГ (55 мг/м<sup>3</sup>) у животных 2 опытной группы отмечались сходные сдвиги в микробиоте кишечника с таковыми у опытных белых крыс 1 группы, но установлено только достоверное снижение содержания бифидобактерий и кишечной палочки (p < 0,01). После месячного ингаляционного воздействия КГ нарушения в микрофлоре кишечника опытных животных значительно возрастали, характеризовались сохранением существенного снижения количества бифидобактерий и кишечной палочки (p < 0,01) с достоверным возрастанием содержания в кишечнике золотистого стафилококка, лактозонегативных грамотрицательных бактерий и клостридий по сравнению с контролем (p < 0,01).

На минимально испытанную концентрацию КГ на уровне 27,5 мг/м<sup>3</sup> со стороны показателей микробиоты кишечника опытных животных 3 группы также определены достоверные сдвиги через 2 и 4 недели ингаляционного воздействия, подобные таковым у белых крыс на более высокие концентрации (таблица 2).

Следует отметить, что на все испытанные высокие концентрации КГ у опытных крыс после месячного восстановительного периода нарушенные показатели микрофлоры кишечника нормализовались и не отличались от величин у контрольных животных.

В выполненных дополнительных экспериментах по оценке влияния на микрофлору кишечника белых крыс месячного ингаляционного воздействия КГ в 2 и 5 раз ниже минимальной испытанной концентрации установлено следующее (таблица 3). Во все сроки исследования у опытных животных 4 и 5 групп величины содержания большинства индикаторных микроорганизмов в кишечнике находились в пределах колебаний таковых у контрольных белых крыс.

Таблица 3 – Количественная характеристика микрофлоры кишечника белых крыс при субхроническом ингаляционном воздействии клиндамицина гидрохлорида в изученных низких концентрациях

Изучаемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов в группах сравнения (n = 6 на каждом измерении, M ± m lg КОЕ/г)		
		контрольная группа	4 опытная группа КГ = 13,5 мг/м <sup>3</sup>	5 опытная группа КГ = 5,5 мг/м <sup>3</sup>
Бифидобактерии:	фон	8,96 ± 0,11	9,08 ± 0,12	8,98 ± 0,07
	2 нед. ингал.	9,17 ± 0,13	9,12 ± 0,12	9,05 ± 0,08
	1 мес. ингал.	9,49 ± 0,08	9,28 ± 0,02	9,34 ± 0,06
	восст. период	8,67 ± 0,02	8,86 ± 0,15	8,95 ± 0,06
<i>E.coli</i> :	фон	5,91 ± 0,33	6,05 ± 0,11	6,06 ± 0,08
	2 нед. ингал.	6,25 ± 0,26	6,14 ± 0,09	6,09 ± 0,08
	1 мес. ингал.	6,03 ± 0,06	5,85 ± 0,09	5,86 ± 0,07
	восст. период	6,20 ± 0,16	6,14 ± 0,10	6,13 ± 0,11
<i>S. aureus</i> :	фон	6,13 ± 0,17	5,38 ± 0,38	5,83 ± 0,17
	2 нед. ингал.	5,12 ± 0,07	5,34 ± 0,012	5,34 ± 0,13
	1 мес. ингал.	5,20 ± 0,20	5,22 ± 0,03	5,46 ± 0,12
	восст. период	5,14 ± 0,10	5,15 ± 0,06	5,12 ± 0,08
Энтерококки:	фон	7,83 ± 0,09	7,98 ± 0,11	8,04 ± 0,26
	2 нед. ингал.	7,46 ± 0,12	7,49 ± 0,15	7,58 ± 0,08
	1 мес. ингал.	7,06 ± 0,08	7,25 ± 0,08	7,20 ± 0,09
	восст. период	6,85 ± 0,06	6,7 ± 0,07	7,01 ± 0,05
Лактозонегативные Г- бактерии:	фон	7,72 ± 0,19	7,32 ± 0,11	7,93 ± 0,14
	2 нед. ингал.	6,80 ± 0,11	6,93 ± 0,17	6,98 ± 0,21
	1 мес. ингал.	5,57 ± 0,16	5,46 ± 0,08	5,59 ± 0,10
	восст. период	5,34 ± 0,08	5,31 ± 0,09	5,59 ± 0,10
Клостридии:	фон	8,01 ± 0,00	8,03 ± 0,01	8,02 ± 0,00
	2 нед. ингал.	8,00 ± 0,00	8,02 ± 0,01	8,01 ± 0,01
	1 мес. ингал.	8,03 ± 0,05	8,42 ± 0,10*	8,20 ± 0,09
	восст. период	9,26 ± 0,10	9,03 ± 0,08	9,05 ± 0,07

\* достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию U.

Ингаляционное воздействие в течение месяца КГ в концентрации на уровне 13,5 мг/м<sup>3</sup> также вызывало существенное повышение в микробиоте опытных животных содержания клостридий по сравнению с контролем (p < 0,01), причем их количество превышало пределы + 2σ среднегруппового значения этого показателя у контрольных животных, что соответствует критерию развития дисбактериоза. Однако после восстановительного периода количественные параметры всех показателей в микрофлоре кишечника опытных животных обеих групп не отличались от контроля (таблица 3).

За пороговую принимают минимальную концентрацию исследованного биопрепарата, на которую установлено умеренно выраженное дисбиотическое действие, характеризующееся достоверными различиями с контролем показателей количественного состава микрофлоры кишечника опытных животных после воздействия более чем в 2 группах, но после восстановительного периода различия исчезают [5]. Данный критерий вполне объективно может быть использован для определения пороговой концентрации субхронического ингаляционного действия АБЛС на микробиоту кишечника белых крыс.

Исходя из полученных результатов к пороговой по дисбиотическому действию на организм белых крыс можно отнести испытанную концентрацию хронического ингаляционного воздействия КГ на уровне 13,5 мг/м<sup>3</sup>.

**Заключение.** Из представленных результатов исследований можно сделать следующие выводы.

1. При субхроническом (в течение месяца) ингаляционном воздействии на организм белых крыс КГ установлено, что его концентрации на уровне 275 и 55 мг/м<sup>3</sup> являются эффективными по токсическому и аллергическому действию на организм, а концентрация на уровне 27,5 мг/м<sup>3</sup> определена как пороговая субхронического токсического действия по лимитирующему показателю высокого количества лейкоцитов в моче и пороговая хронического аллергического действия ( $Lim_{ch\,al}$ ) по лимитирующему показателю сенсibilизации по гиперчувствительности замедленного типа более 30 % опытных животных.

2. На все испытанные высокие концентрации КГ у опытных белых крыс после 2-х недельного и месячного ингаляционного воздействия установлены достоверные (при  $p < 0,01-0,001$ ) разнонаправленные сдвиги со стороны 4–5 из 6 изученных индикаторных показателей количественного состава микробиоты кишечника, а их величины выходили за пределы физиологических колебаний ( $\pm 2\sigma$ ) среднегрупповых значений этих показателей у контрольных животных. Однако после месячного восстановительного периода нарушенные показатели микрофлоры кишечника нормализовались и не отличались от таковых у контрольных животных.

3. При снижении ингалируемых концентраций КГ до 13,5 и 5,5 мг/м<sup>3</sup> у опытных белых крыс величины содержания индикаторных микроорганизмов в кишечнике во все сроки измерения находились в пределах колебаний таковых у контрольных животных, за исключением существенного повышения содержания клостридий в микробиоте опытных животных после завершения месячного воздействия КГ в концентрации 13,5 мг/м<sup>3</sup>, причем их количество превышало пределы  $+ 2\sigma$  среднегруппового значения этого показателя у контрольных животных, что соответствует критерию развития дисбактериоза. Учитывая нормализацию количественных параметров всех показателей микрофлоры кишечника опытных животных после месячного восстановительного периода, обоснована как пороговая хронического ингаляционного дисбиотического действия на организм ( $Lim_{ch\,am}$ ) концентрация КГ на уровне 13,5 мг/м<sup>3</sup>, а недействующая – на уровне 5,5 мг/м<sup>3</sup>.

**Сведения о НИР.** НИР «Разработать метод гигиенического нормирования антибактериальных лекарственных средств в воздухе рабочей зоны» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20221232.

#### **Литература**

1. Земцова, В. О. Особенности биологического действия фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид в субхроническом эксперименте / В. О. Земцова, В. В. Шевляков, Р. В. Богданов, В. М. Васильевич // Медицинская наука: вчера, сегодня, завтра : сб. статей и тез. Всерос. междунар. Форума молодых ученых, посвящ. 200-летию РАН и 80-летию создания РАМН. – М. : Изд. «Тритон», 2024. – С. 1774–1780.

2. Оценка степени сенсibilизирующей способности и аллергенной опасности фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид в экспериментах на белых мышах / Земцова В. О. [и др.] // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : реценз. ежегод. сб. науч. тр. : в 2 т. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубникович, В. А. Филонюк. – Минск : ИВЦ Минфина, 2024. – Вып. 14. – Т. 2 : Фундаментальная наука – медицине. Профилактическая медицина. – С. 110–116.

3. Постановка исследований для обоснования предельно допустимых концентраций антибиотиков в воздухе рабочей зоны : методические указания № 5051-89 : утв. зам. государ. санитарного врача СССР от 18.06.1989 / М-во здравоохранения СССР. – М., 1989. – 22 с.

4. Требования к постановке экспериментальных исследований по изучению аллергенных свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы : метод. указания № 1.1.11-12-5-2003 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь ; разработ. : В. В. Шевляков [и др.] // Сборник официальных документов по медицине труда и производственной санитарии / Респ. центр гигиены, эпидем. и обществ. здоровья, Респ. науч.-практ. центр гигиены ; под общ. ред. В. П. Филонова, С. М. Соколова. – Минск : ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. – Ч. XIV. – С. 133–156.

5. Обоснование предельно допустимых концентраций и методик выполнения измерений содержания в воздухе рабочей зоны микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов на их основе :

инструкция по применению № 009-1015 ; утв. Гл. гос. сан. врачом Респ. Беларусь 16.10.2015 ; разработ. : В. В. Шевляков [и др.] . – Минск, 2015. – 30 с.

6. Методы экспериментального определения дисбиотического действия микроорганизмов-продуцентов и биотехнологических препаратов на их основе : инструкция по применению № 008-0914 : утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 09.09.2014 ; разработ. : Н. В. Дудчик [и др.]. – Минск, 2014. – 14 с.

*Zemtsova V. O., Bogdanov R. V., Shevlyakov V. V., Filonyuk V. A.<sup>1</sup>, Yemelyanova O. A.,  
Erm G. I., Chernyshova E. V., Studenichnik T. S., Silich A. I.*

## **EXPERIMENTAL EVALUATION OF TOXIC, ALLERGIC AND DYSBIOTIC EFFECTS ON THE BODY OF THE PHARMACEUTICAL SUBSTANCE CLINDAMYCIN HYDROCHLORIDE DURING SUBCHRONIC INHALATION EXPOSURE**

*State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus*

*<sup>1</sup> Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus*

Mandatory parameters for substantiating the MCL in the air of the working area of the pharmaceutical substance of the antibiotic clindamycin hydrochloride (hereinafter – CH) are the determination of threshold concentrations of toxic, allergic and dysbiotic effects during subchronic inhalation exposure to the body of white rats, which determined the relevance and purpose of these experimental studies. It was established that during inhalation exposure for a month on the body of white rats, CH concentrations at the level of 275 and 55 mg/m<sup>3</sup> were effective in terms of toxic and allergic effects on the body, and a concentration at the level of 27.5 mg/m<sup>3</sup> was determined as the threshold of subchronic toxic action by the limiting indicator of a high number of leukocytes in the urine and the threshold of chronic allergic action ( $Lim_{ch\,al}$ ) by the limiting indicator of sensitization by delayed-type hypersensitivity of more than 30 % of experimental animals.

CH after a month-long inhalation exposure in the tested 4 successively decreasing concentrations caused the development of dysbacteriosis in experimental white rats, characterized by significant shifts in several indicator parameters of the quantitative composition of the intestinal microbiota, which were normalized after a month-long recovery period. The minimum concentration of CH at the level of 13.5 mg/m<sup>3</sup>, which still causes moderately expressed dysbacteriosis, is justified as the threshold of chronic inhalation dysbiotic effect ( $Lim_{ch\,am}$ ) on the body, and at the level of 5.5 mg/m<sup>3</sup> it was ineffective.

**Keywords:** pharmaceutical substance of the antibiotic clindamycin hydrochloride, subchronic inhalation exposure, threshold concentrations of toxic, allergic and dysbiotic effects on the body.

### **References**

1. Zemtsova V. O., Shevlyakov V. V., Bogdanov R. V., Vasilkevich V. M. Features of the biological action of the pharmaceutical substance clindamycin hydrochloride in a subchronic experiment / Medical science: yesterday, today, tomorrow: collection of articles and abstracts of the All-Russian International Forum of Young Scientists, dedicated to the 200th anniversary of the Russian Academy of Sciences and the 80th anniversary of the establishment of the Russian Academy of Medical Sciences. M.: Triton Publishing House, 2024. – P. 1774–1780.

2. Zemtsova V. O., Bogdanov R. V., Shevlyakov V. V., Filonyuk V. A. et al. Evaluation of the degree of sensitizing ability and allergenic hazard of the pharmaceutical substance clindamycin hydrochloride in experiments on white mice // BSMU at the forefront of medical science and practice: review. annual collection of scientific papers: in 2 volumes / Ministry of Health of the Republic of Belarus, Belarusian State Medical University; edited by S.P. Rubnikovich, V. A. Filonyuk. Minsk; Computing and Information Center of the Ministry of Finance, 2024; Issue 14, Vol. 2: Fundamental science – medicine. Preventive medicine. – P. 110–116.

3. Setting up studies to substantiate maximum permissible concentrations of antibiotics in the air of the working area: guidelines No. 5051-89: approved by the Deputy State Sanitary Doctor of the USSR on 18.06.1989 / Ministry of Health of the USSR. Moscow, 1989, 22 p. (in Russian)

4. Requirements for the design of experimental studies on the study of allergenic properties and substantiation of maximum permissible concentrations of chemical allergens in the air of the working area and atmosphere: method. instructions No. 1.1.11-12-5-2003 / Ministry of Health of the Republic of Belarus; developed by: V. V. Shevlyakov [et al.] // Collection of official documents on occupational medicine and industrial sanitation / Republican Center for Hygiene, Epidemiological and Public Health, Republican Scientific and Practical Center for Hygiene; under the general editorship of V. P. Filonov, S. M. Sokolov. – Minsk: PChUP «BusinessOffset», 2004. – Part XIV. – Pp. 133–156.

5. Shevlyakov V. V., Filonyuk V. A., Dudchik N. V. et al. Justification of maximum permissible concentrations and methods for measuring the content of microorganisms-producers and microbial preparations based on them in the air of the working area: instructions for use No. 009-1015; approved by the Chief State Sanitary Physician of the Republic of Belarus on 16.10.2015. Minsk; 2015, 30 p. (in Russian)

6. Dudchik N. V., Filonyuk V. A., Shevlyakov V. V. Methods for experimental determination of the dysbiotic effect of producer microorganisms and biotechnological preparations based on them: instructions for use No. 008-0914; approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Republic of Belarus on 09.09.2014. Minsk, 2014, 14 p. (in Russian)

*e-mail* для переписки: [veto4ka1710@rambler.ru](mailto:veto4ka1710@rambler.ru)

Поступила 07.10.2024

ISSN 2076-3778

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ  
И ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ»

## **ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА**

### **Сборник научных трудов**

Выпуск 34

Гомель  
Редакция газеты «Гомельская праўда»  
2024