

*Sergey P. Sakharov,  
MD, assistant professor;*

*Leonid B. Kozlov,  
MD (Doctor in medicine), assistant professor;  
Tyumen state medical academy*

## On Background of Ambustial Trauma Translocation of Cultivated and Uncultivated Bacteria in an Organism of Rabbits of Brand «Chinchilla»

**Key words:** *translocation of bacteria, cultivated and uncultivated bacteria, burn, infectious process.*

**Annotation:** *On the basis of clinical, microbiological and histological studies revealed differences in the pathogenesis of burn disease at hypodermic injection the rabbit of breed «chinchilla» of the cultivated and uncultivated bacteria of *P.aeruginosa* and *S.aureus*, showing in the time of death of animals and penetration of bacteria in a cerebrum. It was found the translocation of *P.aeruginosa* and *E. coli* in the organism of animals on development of pathological process with a fatal outcome.*

### **Введение**

По данным ВОЗ ожоги занимают третье место в общей структуре травматизма. В Российской Федерации ежегодно около 500 тыс. населения получают ожоги, в том числе 29-46% из них нуждаются в госпитализации (1, 2, 3), в 5-7% случаев причиной гибели являются патология головного мозга (4, 5). Удельный вес детей, пострадавших от термической травмы, составляет 13,8 - 75,3% с высоким процентом летальности (6, 7, 8, 9, 10). Одной из основных причин высокой летальности при ожоговой болезни является возникновение генерализованной инфекции с последующим развитием полиорганной недостаточности (11, 12, 13, 14). На основании вышеизложенного возникает необходимость более детального изучения влияния патогенной и условно патогенной микрофлоры на инфекционный процесс при ожоговой болезни.

### **Цель исследований**

На модели кроликов породы «шиншилла» изучить динамику развития инфекционного процесса, вызванную культивируемыми и некультивируемыми бактериями при ожоговой болезни.

### **Задачи**

1. В опытах на кроликах породы «шиншилла» изучить особенности течения инфекционного процесса, вызванного культивируемыми и некультивируемыми бактериями *P.aeruginosa* и *S.aureus* на фоне ожоговой травмы.
2. Выявить влияние транслокации культивируемых и некультивируемых бактерий на развитие инфекционного и патологического процессов в организме кроликов при ожоговой болезни.

### **Материалы и методы исследований**

Транслокацию микробных популяций изучали в организме кроликов породы «шиншилла». Под наблюдением находилось 2 группы животных по 16 кроликов в каждой группе. Одной группе животных на фоне ожоговой травмы вводили подкожно смесь культивируемых бактерий *P. aeruginosa* и *S.aureus* в концентрации  $10^5$  степени микробных клеток, а другой – некультивируемые бактерии *P. aeruginosa* и *S.aureus* в такой же концентрации. После предварительного наркоза (15) животным наносили термическую травму. Поверхность спины и боковые поверхности туловища кроликов погружали в водяную баню на 10 сек при температуре 90°C. Наблюдался ожог со степенью поражения ШАБ. На ожоговой поверхности кроликов фиксировали перевязочный материал (16). Средняя масса тела кроликов в исследуемых группах животных составила  $2262,5 \pm 28,4$  и  $2386,7 \pm 48,5$  грамм соответственно, а ожоговая поверхность –  $15,98 \pm 0,53\%$  и  $17,29 \pm 0,4\%$  площади поверхности тела животного.

Для заражения кроликов использовали культуры бактерий *P.aeruginosa* и *S. aureus*, выделенные от больных, находящихся на лечении в ожоговом отделении ГБУЗ ТО «Областной клинической больницы № 1» г. Тюмени. Микробиологические исследования проводили в соответствии с требованиями приказа МЗ РФ №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследований, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Идентификацию бактерий проводили по общепринятым методикам (17). Некультивируемые бактерии получали по методике предложенной Л.Б.Козловым с соавт., используя хладотермостат (18, 19).

Опыты на кроликах проводили в виварии ФГБОУ ВПО «Государственного аграрного университета Северного Зауралья». Здоровых кроликов содержали в клетках в соответствии с требованиями санитарных правил (Утв. Главным Государственным санитарным врачом №1045-73).

Для выявления преморбидного фона за кроликами до проведения опыта наблюдали в течение 21 дня. После карантина кроликов помещали в экспериментальные клетки собственной конструкции (20) и в течение 3-х дней наблюдали за животными (процесс адаптации животных к новым клеткам). В виварии поддерживали температуру воздуха 24-26°C в соответствии с приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 и требованиями Европейской конвенции (Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, выводу их из эксперимента и последующей утилизации.

В течение 21 дня за кроликами проводили наблюдение, вскрытие погибших животных и исследование внутренних органов (почек, легких, печени и головного мозга). Определяли в органах концентрацию культивируемых бактерий. Из органов готовили гистологические срезы и определяли наличие патологических изменений (23).

Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином, суданом III (выявление капель жира), по Рего, Бесту (выявление гранул гликогена), скопление фибрина определяли по методу Д.Д. Зербино.

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью компьютерной программы STATISTIKA v 6.0, с использованием средней арифметической ошибки ( $M \pm m$ ).

### **Результаты и обсуждение**

После введения кроликам некультивируемых бактерий на фоне ожоговой травмы установлена транслокация культивируемых и некультивируемых бактерий *P.aeruginosa* из подкожных локусов и транслокация культивируемой *E.coli* из кишечника животных во внутренние органы. В течение первых двух суток болезни животных наблюдалась транслокация некультивируемых бактерий *P.aeruginosa* в головной мозг с развитием молниеносного летального исхода. Из тканей головного мозга в результате микробиологических исследований выделялась культура *P.aeruginosa*, а при гистологическом исследовании срезов мозговой ткани наблюдались дистрофически-дегенеративные изменения нервных клеток. В препаратах головного мозга погибших животных обнаружен периваскулярный и перичеллюлярный отек головного мозга, утолщение мягких мозговых оболочек, разрыхление волокнистых структур.

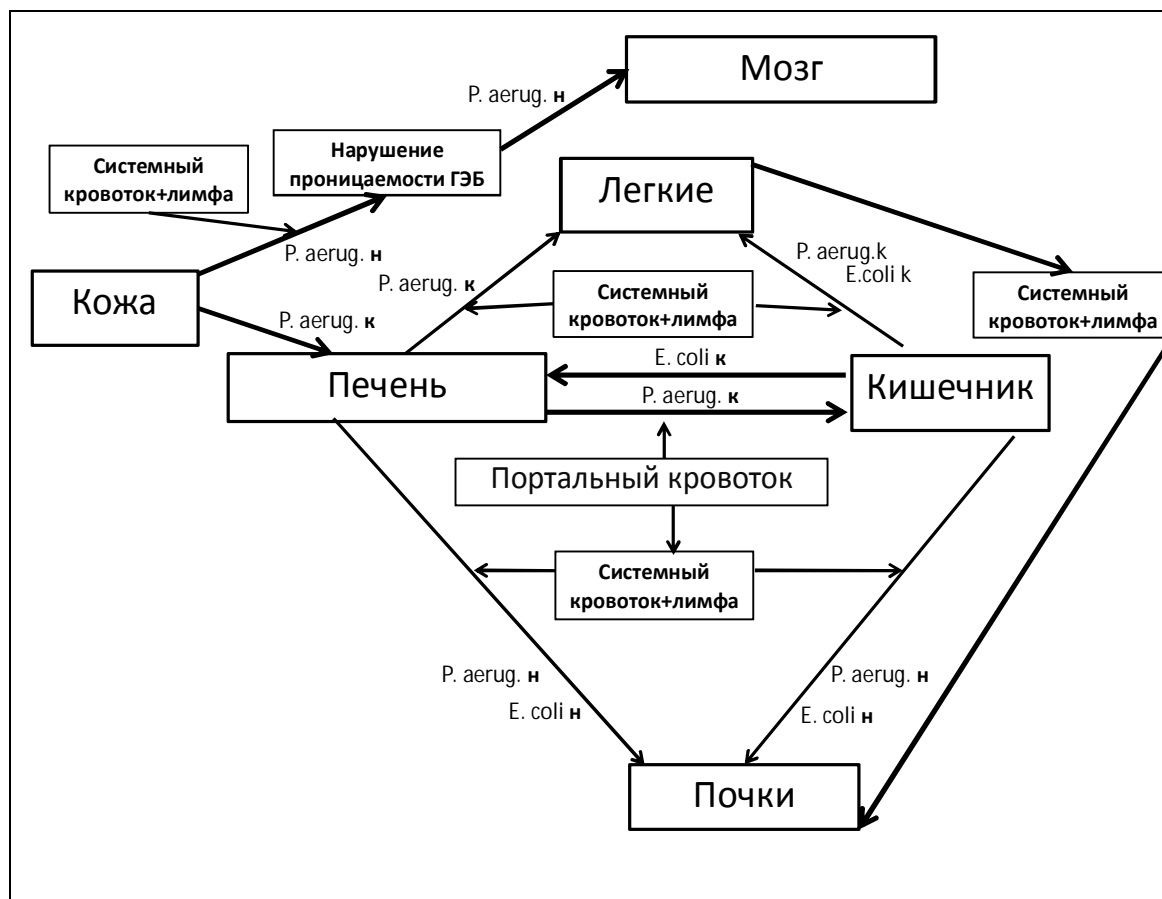
На 3-4 сутки болезни кроликов наблюдалась транслокация культивируемой *P.aeruginosa* во внутренние органы животного с высокой репродуктивной активностью (до  $10^9$  lg микробных клеток в 1 грамме ткани).

На рисунке 1, представлена транслокация *P.aeruginosa* в организме кроликов после подкожного введения некультивируемых бактерий на фоне ожоговой травмы.

С 4-го дня болезни кроликов наблюдалась транслокация кишечной палочки из кишечника животных во внутренние органы животного с высокой репродуктивной активностью (до  $10^9$  lg микробных клеток в 1 грамме ткани). У животных, погибших на 4-е сутки, наблюдалось полнокровие сосудов подслизистого слоя и повреждение слизистой оболочки кишечника. На гистологических препаратах определялись дегенеративные изменения в слизистой оболочке кишечника и отсутствие слизистой оболочки.

Рисунок 1.

Транслокация бактерий в организме кроликов после подкожного введения некультивируемых бактерий на фоне ожоговой травмы



Обозначения: P. aerug. н - некультивируемые бактерии P. aeruginosa; P. aerug. к - культивируемые бактерии P. aeruginosa; E.coli к – культивируемая культура кишечной палочки; E.coli н – некультивируемая культура кишечной палочки.

Итак, после подкожного введения кроликам некультивируемых бактерий на фоне ожоговой травмы наблюдалась транслокация некультивируемых бактерий P. aeruginosa в головной мозг, транслокация культивируемых бактерий P. aeruginosa во внутренние органы животных из подкожных локусов и транслокация культивируемой E. coli из кишечника животных.

Гибель животных после введения некультивируемых бактерий наблюдалась до 13 дня болезни (87,5% погибших животных). Четыре кролика погибло в течение 23-х часов, а через 56 часов погибло 62,5% животных.

После подкожного введения культивируемых бактерий на фоне ожоговой травмы наблюдалась аналогичная транслокация бактерий, но в более поздние сроки. Транслокации бактерий в головной мозг не наблюдалось. Гибель животных регистрировалась на 12-15 день болезни. Погибло 75,0% животных.

*S.aureus* в инфекционном процессе не участвовала, очевидно в результате однонаправленного антагонистического действия синегнойной палочки.

Результаты наших исследований коррелируют с клиническими наблюдениями (21, 22). С.В. Хрулев на основании морфометрических показателей компьютерных томограмм головного мозга установил периоды поражения головного мозга: с 1 по 5 день и с 16 по 18 день. В эти сроки нами наблюдалась гибель кроликов и поражение головного мозга приподкожным введением некультивируемых бактерий.

### **Заключение**

Ожоговую болезнь следует рассматривать как полиорганное поражение организма с генерализованным инфекционным процессом в результате транслокации культивируемых и некультивируемых бактерий эндогенной и экзогенной микрофлоры.

### **References:**

1. Alekseev AA, Lavrov VA. *Aktual'nye voprosy organizatsii i sostoyanie meditsinskoj pomoschi postradavshim ot ozhogov v Rossiyskoj Federatsii: II sezd kombustologov Rossii, 2-5 iyunya 2008 g.: sb. nauch. tr. M. 2008.*
2. Alekseev AA, Zhegalov VA, Filimonov AA, Lavrov VA. *Problemy organizatsii i sostoyanie spetsializirovannoy pomoschi obozhzhennym v Rossii: Mat. I sezda kombustologov Rossii. Moskva, 2005; 3- 4.*
3. Spiridonov TG. *Patogeneticheskie aspekty lecheniya ozhogovyh ran: Rus.med. zhurn. 2002, t. 10, № 8-9; 395–399.*
4. Shapoval SD. *Vyrazhennost' pechenochnoy nedostatochnosti u bol'nyh sepsisom i ee korrektsiya v sisteme kompleksnogo lecheniya: Vestnik morskoy meditsiny. 2001, № 2(14); 23-29. Campbell M.S., Wright A.C. Real-time PCR analysis of *Vibrio vulnificus* from oysters: *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, Vol.69, № 12; 7137-7144.*
5. Campbell MS, Wright AC. *Real-time PCR analysis of *Vibrio vulnificus* from oysters: *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, Vol.69, № 12; 7137-7144.*
6. Ashkraft KU, Holder TM. *Detskaya hirurgiya, Per. s angl. Nemilovoy T.K. SPb., Hardford, 1996, 1t; 384.*
7. Bairov GA. *Detskaya travmatologiya. SPb: Izdatel'stvo Piter, 2000; 384.*
8. Vozdvizhenskiy SI, Prodeus AP, Astamirov TS. *Prognosticheskoe znachenie izmeneniy immunnoy sistemy u detey s termicheskimi porazheniyami: Mat. nauchnoy konferen. "Aktual'nye problemy travmatologii i ortopedii", provodimyj v ramkah mezhdunarodnogo foruma "Chelovek i travma". Posvyaschen 55-letiyu Nizhegorodskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta travmatologii i ortopedii. Nizhniy Novgorod, 2001; 189.*
9. Karpova LS, Orlova TI, Karpuhin TI. *Znachenie geterogenosti respiratorno - siintial'nyh virusnyh populyatsiy v razvitii epidemiologicheskogo protsessa: Zhurn. mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. 1986, №4; 67-74.*
10. Leyderman IN. *Sindrom poliorgannoy nedostatochnosti, metabolicheskie osnovy: Vestn. intensiv, terapii. 1999, № 2; 5-10.*
11. Antonov AG, Baybarina EN, Sokolovskaya YuV. *Obedinennye diagnosticheskie kriterii sepsisa u novorozhdennyh: Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii. 2005,- T.4, № 5–6; 113–115.*
12. Baranov AA. *Neonatologiya. Natsional'noe rukovodstvo. M.: GEOTAR-Media, 2007; 848.*
13. Samsygina GA. *Antibakterial'naya terapiya sepsisa u detey. Lektsii po pediatrii. M.: Meditsina, 2005; 524.*

14. Samsygina GA. *Diskussionnye voprosy klassifikatsii, diagnostiki i lecheniya sepsisa v pediatrii: Pediatriya*, 2003, № 5; 35–45.
15. Razina AV. *Vliyanie razlichnykh variantov obschey anestezii i operatsionnoy travmy na organizm: avtoref. dis...kand. veteren., nauk. Troitsk*, 2010; 26.
16. *Ustroystvo dlya fiksatsii perevyazochnogo materiala na ozhogovoy poverhnosti eksperimental'nogo zhivotnogo: pat.133721 Ros.Federatsii MPK A61D 3/00. Kozlov L.B. s soavt.; patentoobladatel' Saharov S.P., Kozlov L.B, zayavka № 2013119319 ot 26.04.2013; opubl. 27.10.2013. Byul. № 30.*
17. *Opredelitel' bakteriy Berdzhi. V 2-h t. Per. s angl. /Pod red. Dzh. Houltta, N.Kriga, P. Snita, Dzh. Steyli, S. Uil'yams. M.: Mir, 1997, T. 1;432; T. 2; 368.*
18. *Sposob vydeleniya nekul'tiviruemykh bakteriy stafilokokka: pat.2470074 Ros. Federatsii MPK C12Q 1/04/ Kozlov L.B. s soavt.; zayavitel' i patentoobladatel' Kozlov L.B., Sannikov A.G. - №2011146052/10; zayavl. 14.11.2011; opubl.20.12.2012. , Byul. № 35.*
19. *Hladotermostat dlya vydeleniya nekul'tiviruemykh bakteriy: pat. 125888 Ros. Federatsii MPK B01L 7/00/ Kozlov L.B. s soavt.; zayavitel' i patentoobladatel' OOO Nauchno-proizvodstvennoe innovatsionnoe predpriyatie «Tyumenskiy institut mikrobiologicheskikh tehnologiy (NPIP «TIMT»». № 2012104891/05; zayavl. 13.02.2012; opubl. 20.03.2013, Byul. № 8.*
20. *Ustroystvo dlya provedeniya eksperimentov na krolikah: pat. 132314 Ros. Federatsii MPK A01K 1/03/ Kozlov L.B. s soavt.; patentoobladatel' Saharov S.P., Kozlov L.B, zayavka № 2013119320 ot 26.04.2013; opubl.20.09.2013. Byul. № 26.*
21. *Shlyk IV, Polushin YuS, Krylov KM, i dr. Ozhogovyy sepsis: osobennosti razvitiya i ranney diagnostiki. // Vestnik anesteziologii i reanimatologii. 2009, T. 6. № 5; 14-24.*
22. *Hrulev SV. Ozhogovaya travma s tserebral'nymi oslozhneniyami u vzroslykh i detey: avtoref. dis...kand. med., nauk. Nizhniy Novgorod: 2009; 30.*
23. *Korzhevskiy DE. Kratkoe izlozhenie osnov gistologicheskoy tehniki dlya vrachey i laborantov-gistologov. Sankt-Peterburg, 2005; 48.*