

ОЦЕНКА ВЫСЕВАЕМОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ

К.Ж. СУВОНОВ

НИИ санитарии, гигиены и профзаболеваний МЗ РУз

ТАЖРИБАВИЙ БАКТЕРИАЛ ТРАНСЛОКАЦИЯДА МИКРООРГАНИЗМЛАР УНИШИНИ БАҲОЛАШ

К.Ж. СУВОНОВ

ЎзР ССВ санитария, гигиена ва касб касалликлари ИТИ

EVALUATION INOCULATION OF MICROORGANISMS IN EXPERIMENTAL BACTERIAL TRANSLOCATION

K.J. SUVONOV

SRI Sanitation, Hygiene and Occupational Diseases MOH Uzbekistan

Тажиба динамикасида тажибавий ўткир ингичка ва йўғон ичак тутилишида бактериал транслокация интенсивлигини баҳолаш учун ичкадаги микроорганизмларнинг мезентериал лимфатик тугунлар, жигар, талоқ, ўпка, портал ва периферик кон, перитонеал экссудатдан униш фоизини тажиба муддатларига боғлиқ ҳолда ўрганиш бўлди. Аникланишича, бунда бактериал транслокация интенсивлиги турли муддатларда (24, 48, 72 соат) бир биридан ишонарли фарқ қилди, интенсивлик мезентериал лимфа тугунлари ва жигарда талоқ ва ўпкага нисбатан яққолроқ намоён бўлди. Мезентериал лимфа тугунлари ва жигардан микроорганизмлар униш фоизи бактериал транслокация интенсивлигини баҳолаш учун тажибавий микробиологик мезон сифатида тавсия этилди.

Калит сўзлар: *бактериялар транслокацияси, лаборатория ҳайвонлари, экстраинтестинал аъзолар, микроорганизмлар униш фоизи.*

Was to study and evaluate germination microorganisms in mesenteric lymph nodes (MDR), liver, spleen, lung, peripheral and portal blood, peritoneal exudate in experiment dynamics for evaluating the intensity of bacterial translocation (BT) at extreme acute obstruction thin (EAOSI) and colon (EAOC). It was found that the intensity of EAOSI and EAOC BT extraintestinal organs of animals in different stages of the experiment differed. WT intensity was most pronounced in MLN and liver, and spleen than in lung. The percentage of germination of MLN organisms and liver are recommended as an experimental evaluation of microbiological criteria for BT intensity in the experiment.

Keywords: *bacterial translocation, laboratory animals, extraintestinal organs, the percentage of germination of microorganisms.*

Актуальность. По Berg R.D. (1985) бактериальная транслокация (БТ) - это прохождение бактерий через слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в экстраинтестинальные части организма - мезентериальные лимфатические узлы, печень, селезенка, кровь и другие. «Феномен БТ» встречается довольно часто [1, 10]. В настоящее время этот феномен интерпретируется двояко: сторонники первой считают, что БТ развивается под влиянием стресса, травм или других внешних экстремальных воздействий, при снижении деятельности иммунной системы организма и является патогенетическим звеном заболеваний; сторонники второй считают, что БТ не только переход возбудителей эндогенных инфекций во внутреннюю среду организма, но и естественный защитный механизм организма, в виде постоянного антигенного стимула [3, 7].

Чаще всего способны к транслокации *E.coli*, *Proteus spp*, некоторые другие энтеробак-

терии, *B.subtillus*, грамположительные аэробы, низким является способность к транслокации облигатных анаэробов [9]. По Berg R.D. [1985] переход микроорганизмов из ЖКТ в лимфатические узлы кишечника происходит при их популяции в слепой кишке не менее 108-109/г.

Известно, что острая кишечная непроходимость (ОКН) характеризуется синдромом энтеральной недостаточности, местной, системной воспалительной реакцией [1]. Микробная колонизация проксимального отдела кишечника, нарушение деятельности иммунной системы, барьерной функции слизистой оболочки характеризуется основными изменениями характеризующий этот комплекс симптомов [6, 8].

Нужно подчеркнуть, что главные патогенетические аспекты заболевания - состояние нормальной микрофлоры кишечника, недостаточность деятельности местного иммунитета слизистой оболочки не всегда учитываются. В связи с этим при ОКН важное значение приобре-

тает комплексное изучение факторов, приводящих к транслокации из кишечника эндогенной микрофлоры. Учитывая сложность изучения этих процессов с клинической точки зрения, определения и пошагового анализа в динамике изменений звеньев патогенеза ОКН, проведение экспериментальных исследований является целесообразным.

Цель исследования. Изучение и оценка высеваемости микроорганизмов из мезентериальных лимфатических узлов (МЛУ), печени, селезенки, легких, периферической и портальной крови, перитонеального экссудата в динамике эксперимента для оценки интенсивности БТ при экспериментальной острой непроходимости тонкого (ЭОНТонК) и толстого кишечника (ЭОНТолК).

Материалы и методы. Учитывая отличие экспериментальных исследований от клинических, лабораторно-инструментальных и медикосоциальных исследований, мы строго соблюдали все этические принципы работы с экспериментальными животными и правила биологической безопасности [4, 5]. При выборе экспериментального материала основанием явились многочисленные исследования по экспериментальной микробиологии, удобность работы с ним, дешевизна и возможность достижения чистоты эксперимента в методологическом аспекте.

Для проведения исследований были использованы 240 белых беспородных мышей в возрасте 2-3 месяцев и с массой тела 18-25 г.

Идентификация и дифференциация высеянных микроорганизмов проводили традиционными бактериологическими методами. Для этого использованы питательные среды фирмы «HiMedia» (Индия).

Полученные результаты обработаны традиционными методами вариационной статистики. Все исследования проведены на персональных компьютерах с использованием пакета программ для медико-биологических исследований. При организации и проведении исследований соблюдены принципы доказательной медицины.

Полученные результаты. При выполнении исследований использовали экспериментальные модели острой обтурационной непроходимости тонкого и толстого кишечника, предложенных Круглянским Ю.М. [2] в нашей модификации. Проведены 3 серии исследований. Все привлеченные в эксперименты лабораторные животные разделены на 4 группы: 1 группа - ЭОНТонК (n=72); 2 группа - ЭОНТолК (n=72); 3 группа - животные, у которых вскрывали брюшную полость, но не проводили обтурацию (группа сравнения, n=72); 4 группа - интактные лабораторные животные (контрольная группа, n=24).

В свою очередь 1, 2, 3 группы были разделены на подгруппы: 1а, 2а и 3а - ЭОНТонК и ЭОНТолК продолжавшиеся 24 часа; 1б, 2б и 3б - ЭОНТонК и ЭОНТолК продолжавшиеся 48 часов; 1в, 2в и 3в - ЭОНТонК и ЭОНТолК продолжавшиеся 72 часа. Нами были выбраны эти сроки исследования учитывая то, что в эти сроки наблюдаются основные клинические, патологические и морфологические изменения в стенках кишечника, связанные с обтурацией [1, 2].

Для формирования ЭОНТонК проводили лигатуру по краям брыжейки подвздошной кишки, при этом постарались не вовлекать брыжейку в патологический процесс. Для формирования ЭОНТолК проводили такие же мероприятия, только в отличие от ЭОНТонК обтурацию проводили на дистальной части толстого кишечника. Лабораторным животным 3 группы вскрыли брюшную полость и зашили не нанося лигатуру на тонкий и толстый кишечник. В контрольной группе вмешательства не проводились.

После срока наблюдения лабораторные животные умерщвляли соблюдая все этические принципы работы с лабораторными животными и правила биологической безопасности [4, 5].

После этого начаты микробиологические исследования. При вскрытии трупов животных строго соблюдали меры предосторожности, чтобы предупредить внесение микроорганизмов с поверхности в глубину ткани, а также их перенос из одного органа в другой. С помощью стерилизованных инструментов на огне спиртовой лампы вскрывали кожу и подкожную клетчатку, взяли биологический материал сначала с органов грудной клетки (легкие), затем из органов брюшной полости (МЛУ, печень, селезенка). Вместе с тем исследовали портальную и периферическую кровь, перитонеальный экссудат из брюшной полости. Для взятия материала органов животного сначала прижигали, затем разрезали с помощью стерильных ножниц и захватив пинцетом кусочек органа нанесли отпечаток на поверхности стерильных питательных сред.

Учитывая то, что в норме все экстраинтестинальные органы животных являются стерильными рост любого микроорганизма на поверхности питательных сред оценивали как БТ.

Показатели роста микроорганизмов из органов также отличались между собой. Были идентифицированы следующие микроорганизмы - *Escherichia* spp, *Enterobacter* spp, *Citrobacter* spp, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp, *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp, *Bacteroides* spp. Высеваемость этих микроорганизмов описана предложенным нами микробиологическим критерием, определяющим интенсивность БТ - процентом всхожести микроорганизмов (ПВМ).

Проведенными исследованиями установлено, что при ЭОНТонК через 24 часа ПВМ из МЛУ составил $45,8 \pm 5,9\%$. Этот показатель через 48 часов повысился до $91,7 \pm 3,3\%$ ($P < 0,001$), а через 72 часа достиг 100% ($P < 0,05$).

Показатель ПВМ из печени отличался от этих же параметров МЛУ, так если через 24 часа микроорганизмы из печени высевались в $29,2 \pm 5,4\%$ случаях, то через 48 и 72 часа эти параметры были повышенными - соответственно до $56,9 \pm 5,8\%$ и $81,9 \pm 4,5\%$. При сравнении с результатами 24-часового срока степень достоверности соответственно было $P < 0,02$ и $P < 0,001$.

ПВМ из селезенки животных резко отличался от показателей предыдущих органов. Если через 24 часа после начала эксперимента микроорганизмы не были идентифицированы («отрицательный бактериологический результат»), то через 48 и 72 часа эти показатели составили - соответственно $29,2 \pm 5,4\%$ и $31,9 \pm 5,5\%$.

Отличительной особенностью высеваемости микроорганизмов из паренхимы легкого было то, что ПВМ в несколько раз был достоверно низким по сравнению с другими органами. После формирования ЭОНТонК через 24 часа рост микроорганизмов из ткани легкого не наблюдали, при этом ПВМ через 48 и 72 часов составил - соответственно $9,7 \pm 3,5\%$ и $15,3 \pm 4,2\%$.

При изучении показателей групп сравнения и контроля не получены положительные бактериологические показатели во все сроки наблюдения.

На следующем этапе исследований изучали интенсивность БТ на экстраинтестинальные органы животных в различные сроки при ЭОНТолК. Установлено, что в подгруппе 2а (ЭОНТолК после 24 часов) ПВМ в МЛУ был на уровне показателя ЭОНТонК - $41,7 \pm 5,8\%$ против $45,8 \pm 5,9\%$ ($P > 0,05$). Но, 48 часов обнаружены достоверные отличия между этими параметрами - $59,7 \pm 5,8\%$ против $91,7 \pm 3,3\%$ ($P < 0,001$). Результаты через 72 часа были идентичными у ЭОНТонК и ЭОНТолК.

Результаты исследований по печени показали следующие результаты: ПВМ через 24 часа $18,1 \pm 4,5\%$, через 48 часов $51,3 \pm 5,9\%$ и через 72 часа $80,6 \pm 4,7\%$. Через 24 часа в печени при ЭОНТолК ПВМ в 1,6 раза достоверно низок по сравнению с ЭОНТонК, но через 48 часов достоверных отличий между показателями не выявлены. Тенденция изменений интенсивности БТ в обеих моделях с увеличением срока эксперимента были практически схожими.

Полученные результаты по ПВМ из селезенки отличались от результатов по МЛУ и печени. Так через 24 часа посеы из селезенки дали отрицательный результат, но через 48 часов

отмечали рост микроорганизмов, где ПВМ было равно $19,4 \pm 4,7\%$, через 72 часа ПВМ был повышен на 1,9 раза по сравнению с предыдущим результатом $37,5 \pm 5,7\%$ ($P < 0,001$).

Тенденция изменений результатов исследований по легочной ткани были схожи с данными ПВМ селезенки. Если через 24 часа идентифицировать микроорганизмы не удалось, то через 48 часов этот показатель равнялся $16,7 \pm 4,4\%$, а через 72 часа ПВМ достоверно повышался в 2,2 раза по сравнению с предыдущим показателем - $36,1 \pm 5,7\%$.

В селезенке во всех сроках эксперимента между показателями не выявлены статистически значимых отличий, но показатели ПВМ из легких через 72 часа достоверно отличались между этими моделями в 2,4 раза.

Как и при ЭОНТонК, при ЭОНТолК в 3 и 4 группах рост микроорганизмов не обнаружен («отрицательный бактериологический результат»).

При ЭОНТонК и ЭОНТолК в изученных сроках ПВМ из МЛУ, печени, селезенки и легких между собой резко не отличались, но определенные закономерности изменений были выявлены. При обеих моделях через 24 часа показатели ПВМ в МЛУ были без достоверных изменений, через 48 часов между параметрами выявлены эти отличия, но через 72 часа статистически значимые отличия исчезли. По-видимому, в последние сроки эксперимента интенсивность БТ очень высока и этот параметр практически не зависит от локализации транслоцирующихся микроорганизмов.

Для сравнительного анализа интенсивности БТ при ЭОНТонК и ЭОНТолК мы привели показатели ПВМ в сравнительном аспекте (диаграмма 1.).

Следующим этапом было изучение показателя ПВМ портальной и периферической крови, перитонеального экссудата у этих животных.

Полученные результаты показывают, что при ЭОНТонК через 24 часа в портальной крови ПВМ составил $33,3 \pm 5,6\%$, а при ЭОНТолК $15,3 \pm 5,6\%$, что достоверно ниже предыдущего показателя. Но, через 48 часов эти параметры достоверно увеличились по отношению к предыдущим показателям - соответственно $56,9 \pm 5,8\%$ и $37,5 \pm 5,7\%$.

При изучении данных следующего срока эксперимента (72 часа) при ЭОНТонК и ЭОНТолК ПВМ обнаружен у всех животных - соответственно по 100% . Эти показатели соответственно на 3,0 и 6,5 раза были больше чем показатели 24-часового срока эксперимента, а также на 1,8 и 2,7 раза больше данные 48-часового эксперимента ($P < 0,001$).

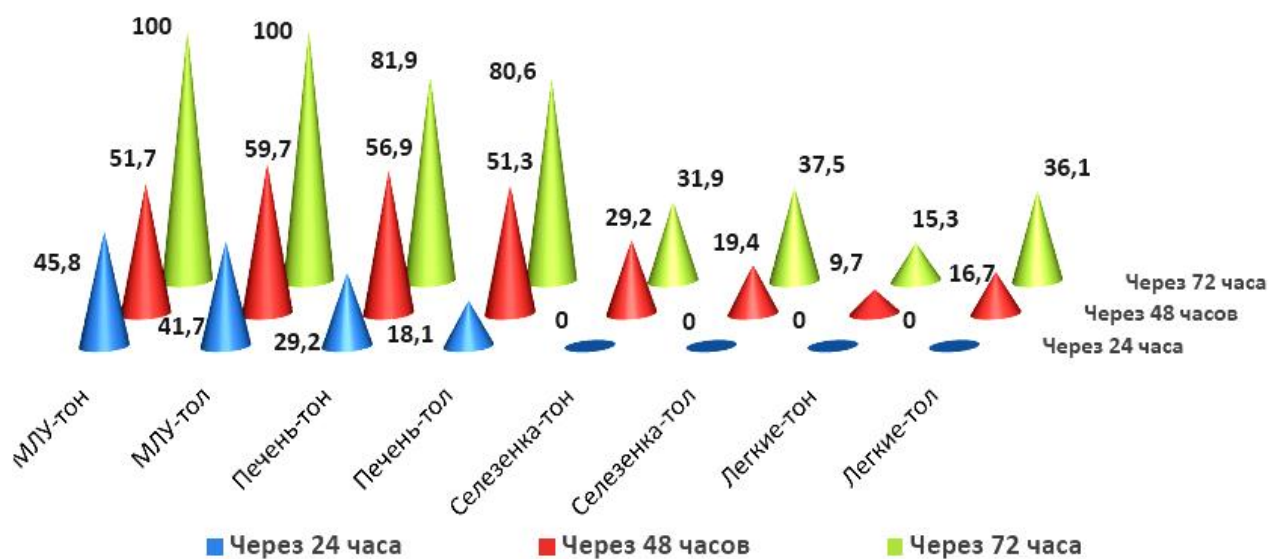


Диаграмма 1. Процент всхожести микроорганизмов из органов экспериментальных животных при ЭОНТонК и ЭОНТолК (примечание: тон - тонкий кишечник; тол - толстый кишечник)

При этих моделях и сроках эксперимента проводили микробиологические исследования с периферической кровью животных. В обоих моделях через 24 часа идентифицировать микроорганизмы не удалось («отрицательный бактериологический результат»). Но с увеличением срока эксперимента (48 часов) показатели ПБМ в обоих моделях составили соответственно $19,4 \pm 4,7\%$ и $25,0 \pm 5,1\%$. Полученные результаты через 72 часа несколько отличались от предыдущего срока. При ЭОНТонК получен результат статистически не отличающийся от предыдущего срока ($23,6 \pm 5,0\%$), но при ЭОНТолК процент положительных бактериологических проб был на 1,9 раза больше ($P < 0,001$), чем при 48-часовом эксперименте - $47,2 \pm 5,9\%$.

Показатели ПБМ перитонеальной жидкости резко отличались от параметров периферической крови, но были близки к данным портальной крови. Результаты исследований в зависимости от срока эксперимента (24, 48, 72 часа) были следующими: при ЭОНТонК соответственно - $48,6 \pm 5,9\%$, $65,2 \pm 5,6\%$ и $94,4 \pm 2,7\%$; при ЭОНТолК соответственно - $34,7 \pm 5,6\%$, $58,3 \pm 5,8\%$ и $97,2 \pm 1,9\%$.

Нужно подчеркнуть, что в обоих моделях только при 24-часовом сроке были достоверные отличия между полученными цифрами ($P < 0,05$), при других сроках показатели достоверно не отличались между собой ($P > 0,05$).

Выявлено, что в группах сравнения и контроля при микробиологических исследованиях портальной и периферической крови получены

отрицательные бактериологические результаты. Но, в группе сравнения из перитонеальной жидкости через 48 и 72 часа высеяны микроорганизмы, где ПБМ равно $2,8 \pm 1,9\%$ и $4,2 \pm 2,4\%$. Данные контрольной группы были идентичны с другими биологическими образцами («отрицательный бактериологический результат»).

Выводы.

1. Установлено, что при ЭОНТонК и ЭОНТолК интенсивность БТ или ПБМ из экстраинтестинальных органов лабораторных животных в разных сроках эксперимента отличались между собой. Интенсивность БТ было наиболее ярко выраженным в МЛУ и печени, чем в селезенке и легких.

2. Выявлено, что в отличие от изученных органов (МЛУ, печень, селезенка, легкие) и биологических образцов (портальная и периферическая кровь) в перитонеальном экссудате через 48 и 72 часа отмечали положительные бактериологические результаты.

3. ПБМ из МЛУ и печени рекомендуются как экспериментальный микробиологический критерий для оценки интенсивности бактериальной транслокации в эксперименте.

Литература:

1. Гостищев А.Н., Афанасьев Ю.М. Круглянский Д.Н., Сотников В.К. Бактериальная транслокация в условиях острой непроходимости кишечника // Вестник РАМН. - Москва, 2006. - №9-10. - С.34-38.

2. Круглянский Ю.М. Бактериальная транслокация при обтурационной непроходимости кишечника (экспериментальное исследование): Автореф. дис. канд. мед. наук. - Москва, 2007. - 24 с.
3. Никитенко В.И., Ткаченко Е.И., Стадников А.А. Транслокация бактерий из желудочно-кишечного тракта - естественный защитный механизм // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - Москва, 2004. - №1. - С.48-52.
4. Нуралиев Н.А., Бектимиров А.М.-Т., Алимова М.Т., Сувонов К.Ж. Правила и методы работы с лабораторными животными при экспериментальных микробиологических и иммунологических исследованиях // Методическое пособие. - Ташкент, 2016. - 33 с.
5. Нуралиев Н.А., Сувонов К.Ж., Хамракулова М.А. Лаборатория хайвонлари билан ишлашнинг этик тамойиллари // ЎзР ССВ томонидан тасдиқланган 0438 рақамли ахборот хати. - Тошкент, 2016. - 7 б.
6. Пеев Б.И., Довженко А.Н. Бактериальная транслокация и нарушение моторно-эвакуаторной функции тонкой кишки в послеоперационном периоде у больных с острой кишечной непроходимостью // Украинский журнал хирургии. - Киев, 2009. - №4. - С.113-116.
7. Титов В.Н., Дугин С.Ф. Синдром транслокации, липополисахариды бактерий, нарушения биологических реакций воспаления и артериального давления (лекция) // Клиническая лабораторная диагностика. - Москва, 2010. - №4. - С.21-37.
8. Aslan A., Karaveli C., Ogunc D., Elpek O., Karaguzel G., Melikoglu M. Does noncomplicated acute appendicitis cause bacterial translocation // *Pediatr Surg Int.* - 2007. - N23(6). - P.555-558.
9. Almelda J., Galhenage S., Yu J. et al. Gut flora and bacterial translocation in chronic liver disease //

World J. Gastroenterol. - 2006. - Vol.12. - P.1493-1502.

10. Gencay C., Kilicoglu S.S., Kismet K. et al. Effect of honey on bacterial translocation and intestinal morphology in obstructive jaundice // *World J. Gastroenterology.* - 2008. - Vol.14. - N21. - P.3410-3415.

ОЦЕНКА ВЫСЕВАЕМОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ

К.Ж. СУВОНОВ

НИИ санитарии, гигиены и профзаболеваний
МЗ РУз

Было изучение и оценка всхожести микроорганизмов в мезентериальных лимфатических узлах (МЛУ), печени, селезенке, легких, периферической и портальной крови, перитонеальном экссудате в динамике эксперимента для оценки интенсивности бактериальной транслокации (БТ) при экспериментальной острой непроходимости тонкого (ЭОНТонК) и толстого кишечника (ЭОНТолК). Установлено, что при ЭОНТонК и ЭОНТолК интенсивность БТ из экстраинтестинальных органов животных в разных сроках эксперимента отличались между собой. Интенсивность БТ было наиболее ярко выраженным в МЛУ и печени, чем в селезенке и легких. Процент всхожести микроорганизмов из МЛУ и печени рекомендуются как экспериментальный микробиологический критерий для оценки интенсивности БТ в эксперименте.

Ключевые слова: транслокация бактерий, лабораторные животные, экстраинтестинальные органы, процент всхожести микроорганизмов.