

*О. С. Федорук¹
В. Т. Степан¹
І. П. Бурденюк¹
В. І. Бурденюк²*

¹Буковинський державний медичний університет

²Лікарня швидкої медичної допомоги, м. Чернівці

МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ КОНСЕРВАТИВНОГО ЛІКУВАННЯ ГОСТРИХ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ НИРОК ТА ПАРАНЕФРАЛЬНОЇ КЛІТКОВИНИ

Ключові слова: *Гострі запальні захворювання нирок, мікробне число, внутрішньотканинний електрофорез антибіотиків.*

Резюме. *Експериментально проведено теоретичне мікробіологічне обґрунтування доцільності використання електричного поля постійного струму в лікуванні гострих гнійно-запальних захворювань нирок та паранефральної клітковини.*

Вступ

Актуальною проблемою сучасної медицини є термінова безпомилкова діагностика та ефективне лікування хвороб будь-якої етіології з інфекційним компонентом [7,8].

Часте застосування антибіотиків з метою лікування різних захворювань привело до появи і широкого розповсюдження стійких форм мікроорганізмів, число яких постійно збільшується [2,6,10]. На жаль, стійкі до дії антибіотиків культури мікроорганізмів володіють підвищеною вірулентністю, а захворювання, спричинені такими штамми, мають тяжкий перебіг і низьку ефективність лікування [10,11].

Тому останнім часом більше уваги доводиться приділяти як вивченню підбору ефективних антимікробних лікарських заходів, так і пошуку найбільш оптимальних методів їх клінічного застосування та максимальної їхньої доставки до вогнища інфікованого органа макроорганізму при певній патології [1,2,3,11].

Враховуючи вищенаведене, гостро постає питання розробки нових ефективних методів лікування за амбулаторної та госпітальної умови захворювань на локальні інфекційні процеси, з використанням поєднаної дії хіміотерапевтичних антимікробних лікарських засобів та спрямованого електричного поля постійного струму.

Мета дослідження

Об'єктивізувати ефективність та достатність лікування хворих із локальною інфекційною патологією шляхом підбору ефективних антисептичних лікарських препаратів в їх комплексній взаємодії з електричним полем постійного струму.

Матеріал і методи

Дослідження виконано на 36 білих нелінійних самцях щурів віком 18-20 місяців, масою 220-255

г. Усі втручання та евтаназію тварин проводили з дотриманням основних положень GLP (1981 р.), Конвенції Ради Європи "Про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших наукових цілях" від 18.03.1986 р., Директиви СЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Моделювання гострої гнійно-запальної патології нирок у лабораторних тварин проводилося шляхом транскапсульного введення в паренхіму органа зависі ентероінвазивного штаму *Escherichia coli* в 200 млн. мікробних тіл на 1 кг маси тварини під загальним знеболюванням (каліпсол, 0,3-0,5мл/100г маси тварини).

Вибір способу інфікування тварин обґрунтовано такими моментами. Існують факти щодо можливої інтактності інтерстицію ниркової тканини при мікробній емболії на фоні бактеріємії, оскільки на розвиток запального процесу певною мірою впливає неоднакова резистентність ділянок органа до інфекції у зв'язку з різною інтенсивністю кровотоку.

Першу групу (контрольну) становили 12 щурів, на моделі яких була досліджена мікробіологічна картина динаміки прогресування гнійно-запального процесу в нирці на третю, п'яту і сьому добу експерименту (по чотири тварини в кожній підгрупі).

Другу групу сформували з восьми тварин, яким із третьої доби моделювання гнійно-запального процесу в нирці вводили антибіотик (цефтріаксон, 50мг/кг маси тварини, внутрішньом'язово, 1 раз на добу) упродовж 5 діб. Мікробіологічну оцінку запального процесу здійснювали на п'яту та сьому добу експерименту (по 4 тварини у кожній підгрупі) порівняно з контролем у відповідні терміни.

Третю групу дослідження становили 8 тварин, яким із третьої доби моделювання гнійно-запаль-

ного процесу в нирці вводили антибіотик (цефтріаксон, 50мг/кг маси тварини, внутрішньом'язово, 1 раз на добу) із застосуванням внутрішньотканинного електрофорезу упродовж п'яти діб. Мікробне дослідження проводили на п'яту та сьому добу експерименту (по 4 тварини у кожній групі), порівняно з першою і другою групами у відповідні терміни.

Четверту групу сформували також із 8 тварин, на моделі інфекції яких було досліджено динаміку перебігу гнійно-запального процесу в нирці із застосуванням гальванізації з третьої доби експерименту впродовж п'яти діб. Мікробіологічну оцінку здійснювали на п'яту та сьому добу експерименту (по 4 тварини у кожній групі) порівняно з контролем та другою і третьою групами дослідження у відповідні терміни.

Визначення загального мікробного числа у ниркових тканинах (біоптатах) білих щурів дослідних груп проводили за загально визначеними методиками дослідження (Біргер М.О., 1982 р.), та Наказу МОЗ України № 535 від 22.04.1985 р. "Про уніфікацію мікробіологічних (бактеріологічних) методів дослідження, що допускаються в клініко-діагностичних лабораторіях лікувально-профілактичних закладів".

Матеріалом для дослідження слугували шматочки органів (біоптати нирок) контрольної та дослідних груп лабораторних тварин. Взято до уваги, що основною умовою для отримання достовірних результатів та їх вірної трактовки є раннє, не пізніше 1-2 години після загибелі тварини, взяття матеріалу з дотриманням правил асептики. Матеріал, взятий від тварин за експериментальної моделі інфекції з гнійно-запальною патологією, викликаною умовнопатогенними бактеріями, не пізніше як за 1 годину надходив для дослідження в бактеріологічну лабораторію.

Для дослідження мікробіологічної динаміки прогресування гнійно-запального процесу в нирці за експериментальної моделі користувалися щойновиділеним від хворого з нирковою патологією антибіотикостійким штамом кишкової палички (*E.coli*). Культура бактерій, що формувала дрібні S-форми колоній на середовищах м'ясопептонний агар (МПА) та Ендо, не здатна ферментувати лактозу і, подібно до шигел, була нерухома. Подібні штами *E.coli* здатні проникати і розмножуватися в клітинах епітелію слизових оболонок кишечника і сечовивідних шляхів, руйнувати його, а отже можуть бути віднесеними до ентероінвазивного типу *E.coli* (ЕІЕС). У більшості випадків інфікуюча доза таких мікроорганізмів становить 10^5 - 10^6 клітин.

У наших дослідах для інфікування тварин завись бактерій *E.coli* готували з молодих культур

після 18-20 год перебування їх у термостаті при температурі 37°С. Для запобігання присутності в зависі великої кількості сторонніх білкових домішок використовували змиви аграрних культур. Для приготування зависі в пробірку з культурою на скошеному МПА наливали 5 мл ізотонічного розчину хлориду натрію і, повертаючи пробірку між долонями, змивали увесь ріст бактерій. Частину отриманої густої зависі переносили в другу пробірку, подібну до пробірки зі стандартом мутності, що відповідає еталону № 10 – на 10 одиниць мутності, тобто 1 млрд. мікробних клітин в 1 мл зависі (Біргер М.О., 1982).

Моделювання гострої гнійно-запальної патології нирок проводили шляхом транскапсульного введення в паренхіму органа зависі культури ентероінвазивного штаму *E.coli* в об'ємі 0,2 мл (200 млн. мікробних тіл) контрольній і дослідним групам лабораторних тварин.

Інфікованих таким чином тварин контрольної та дослідних груп витримували в умовах віварію. Починаючи з третьої, а також на п'яту і сьому добу від чотирьох тварин контрольної групи проводили забір біоптатів ниркової тканини для вивчення динаміки розвитку експериментальної інфекції. Тварин дослідних груп, починаючи з третьої доби, піддавали лікуванню: гальванізація (група № 2), антибіотик цефтріаксон (група № 3) та поєднана дія електричного поля постійного струму з антибіотиком (група №4). На п'яту і сьому добу по чотири тварини з усіх дослідних груп забивали і забирали біоптати інфікованих нирок для мікробіологічних досліджень.

Визначення загального мікробного числа в ниркових тканинах контрольної і дослідних груп білих щурів проводили за загально визначеними методиками мікробіологічного дослідження матеріалів при автопсії (Біргер М.О., 1982). Матеріалом для мікробіологічного дослідження слугували шматочки ниркової тканини білих щурів вагою 0,3-0,5 г, котрі забирали за умови стерильності безпосередньо після забою тварин. Протягом 1-2 год після забору біоптати піддавали бактеріологічному дослідженню з визначенням мікробного числа, виділенням чистих культур мікроорганізмів та їх ідентифікації.

Після зважування на аналітичних терезах, зберігаючи стерильність, шматочки біоптатів подрібнювали і розтирали в ступці з додаванням 1,0 г стерильного кварцового піску. До отриманого після розтирання гомогенату додавали стерильний фізіологічний розчин хлориду натрію в об'ємі, необхідному для отримання загального розведення біоптату у співвідношенні 1:10. Отриманий засів переносили в стерильну центрифуж-

ну пробірку і центрифугували 1000 об./хв протягом 1 хв. Отриману надосадкову рідину, що вміщувала мікроорганізми, піддавали мікроскопії. Залежно від результатів мікроскопії вносили корективи для подальшого дослідження.

Для визначення мікробного числа досліджувані субстрати розводили. У чотири пробірки наливали по 9 мл розчину хлориду натрію і в першу пробірку додавали 1 мл досліджуваного матеріалу за умови стерильності, змішували вміст пробірки для розведенням вихідної культури 1:10. Аналогічно готували наступні десятикратні розведення матеріалу – додавали в пробірку з 9 мл ізотонічного розчину хлориду натрію 1 мл із папелюдної пробірки.

Отримані суспензії біоптатів досліджували на наявність кількісного складу та характер мікрофлори.

Із цієї метою проводили висіви в об'ємі 1,0 мл різних розведень гомогенатів на 5 % кров'яний агар, жовточно-сольовий агар, середовища Ендо та Сабуро. Із метою ідентифікації родини ентеробактерій, виділених із гомогенатів біоптатів, користувалися середовищами Клігера та Олькеницького.

Ідентифікацію за родовими і видовими ознаками виділених із біоптатів мікроорганізмів проводили на підставі культуральних, тинкторіальних, морфологічних та біохімічних властивостей.

Обговорення результатів дослідження

Із біоптатів ниркової тканини 36 білих щурів, інфікованих культурою *E. coli*, контрольної та дослідних груп, мікробіологічними методами виділили та ідентифікували 113 штамів різних родів і видів умовно-патогенних мікроорганізмів. Із загальної кількості штамів виділених мікроорганізмів 36 (31,8 %) ідентифіковані як лактозонегативні, 27 (23,9 %) – лактозопозитивні *E. coli*. 23

(20,4 %) штами були віднесені до епідермальних стафілококів, 9 (8 %) становили протеї, 7 (6,2 %) – псевдомонади і 11 (9,7 %) виділених культур належали іншим аеробним мікроорганізмам.

Результати мікробіологічних досліджень по визначенню основного в наших дослідках показника – загального мікробного числа аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів у біоптатах ниркової тканини білих щурів, інфікованих *E. coli* наведені в таблиці 1. Аналізуючи показники таблиці, слід відзначити їх дисперсність у кількісному співвідношенні як всередині груп, так і між різними експериментальними групами тварин.

У контрольній групі інфікованих тварин є динаміка збільшення кількості мікроорганізмів в ниркових біоптатах із часу їхнього інфікування ($2,10^8$) до 7 доби закінчення експериментів $7,4 - 8,3 \times 10^8$. У нирковій тканині біоптатів окремих тварин відзначали утворення гнійних вогнищ (абсцедування ниркової тканини).

Дія електричного поля постійного струму на дослідних тварин протягом п'яти діб стабілізує розвиток інфекції з тенденцією до її зниження в біоптатах, отриманих у різні періоди експерименту (табл.1). Середнє значення мікробного числа ($3,9 \times 10^5$) біоптатів, отриманих від дослідних тварин цієї групи на сьому добу розвитку інфекційного процесу, є значно меншим порівняно з аналогічним показником ($2,65 \times 10^8$) біоптатів п'ятої доби.

Більшою мірою проявляв антимікробну активність *in vivo* на змодельованій гнійно-запальній нирковій інфекції антибіотик цефтріаксон. Антибіотик цефалоспоринового ряду III покоління володіє бактерицидністю за рахунок інгібуючої дії синтезу клітинної стінки бактерій. Цефтріаксон знайшов застосування в урології як такий, що володіє широким спектром анти-

Таблиця

Загальне мікробне число аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів у біоптатах ниркової тканини білих щурів, інфікованих *E. coli*

№ п/п	Групи експериментально інфікованих тварин – джерела ниркових біоптатів	Кількість досліджених ниркових біоптатів	Час забору біоптатів та показники їх мікробного числа		
			Третя доба	П'ята доба	Сьома доба
1.	Група № 1 (контрольна група)	12	$2,3- 2,6 \times 10^8$	$5,4- 6,2 \times 10^8$	$7,4-8,3 \times 10^8$
2.	Група № 2 (дослідна під дією електрофорезу)	8	-	$2,5-2,8 \times 10^8$	$3,6-4,2 \times 10^5$
3.	Група № 3 (дослідна під дією цефтріаксону)	8	-	$5,4- 5,2 \times 10^4$	$2,5-2,6 \times 10^4$
4.	Група № 4 (дослідна під дією поєданого електрофорезу і цефтріаксону)	8	-	$2,1-2,4 \times 10^3$	$1,3-1,5 \times 10^2$

мікробної дії по відношенню до аеробних і анаеробних грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів.

У наших дослідах вже на третю добу від початку лікування антибіотиком тварин третьої групи показник мікробного числа біопатів на чотирі порядки зменшився порівняно з контрольною групою тварин. Мікробні числа біопатів тварин цієї групи знаходились у межах $2,5-2,6 \times 10^4$ порівняно з $7,4-8,3 \times 10^8$ – мікробними числами контрольної групи тварин.

Отже, цефтріаксон, як антибіотик широкого спектру, достатньо проявляє бактерицидну дію на використаний в наших дослідах тест – мікроорганізм-ентероінвазивний штам *E. coli*.

Поєднана дія електричного поля постійного струму та антибіотика цефтріаксону є найбільш ефективним методом впливу на перебіг гнійно-запальної ниркової змодельованої патології. Вочевидь, направлена дія електричного поля поляризує від'ємно заряджені тіла збудників, утримуючи їх локально у вогнищі інфекції. Можливо, за рахунок клітинних і гуморальних факторів імунітету певною мірою координатно фіксовані збудники знешкоджуються більш ефективно.

Поляризовані молекули введеного антибіотика цефтріаксону концентруються у межах направлено електростатичного поля, особливо в місцях його максимального напруження, проявляють бактерицидну дію за рахунок пригнічення синтезу клітинних стінок бактерій і, водночас, полегшують їх поглинання фагоцитуючими клітинами.

Показниками ефективності поєднаної лікувальної дії електрофорезу та цефтріаксону в наших дослідах були абстрактні середні значення мікробних чисел дослідної та контрольної груп експериментально інфікованих тварин. Уже на третю добу від початку дії електрофорезу і цефтріаксону середні значення мікробних чисел біопатів дослідної групи тварин становили $2,25 \times 10^3$ і $1,4 \times 10^3$ станом на 5 добу від початку лікування. Для біопатів ниркової тканини контрольної групи білих щурів ці показники були відповідно $5,8 \times 10^8$ та $7,85 \times 10^8$ мікроорганізмів в 1 г досліджуваного матеріалу.

Висновки

1. Із метою визначення терапевтичної ефективності поєднаної дії різних фізико-хімічних лікарських засобів при нирковій гнійно-запальній патології доцільно застосовувати модель запалення в білих щурів, викликаного ентероінвазивними штамми *E. coli*.

2. Електричне поле постійного струму, що поляризує негативно заряджені клітини збудників інфекції, концентрує їх у локусах запалення, пригнічує їх поділ і, стимулюючи активність клітинних і гуморальних факторів резистентності, сприяє стерилізації інфікованого організму.

3. Володіючи широким спектром антимікробної дії відносно аеробних та анаеробних грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, антибіотик цефтріаксон проявляє високу стерилізувальну активність при експериментальній гнійно-запальній нирковій інфекції в білих щурів.

4. Поєднана дія електричного поля постійного струму та антибіотика цефалоспоринового ряду цефтріаксону при модельованій нирковій гнійно-запальній інфекції в білих щурів визначена як найбільш доцільна і високоефективна в наших дослідах.

Перспективи подальших досліджень

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні оптимальних параметрів синергічної дії електричного поля постійного струму та різних антисептичних лікарських препаратів при гнійно-запальних процесах ниркової тканини.

Література. 1. Аносова Ю.А. Направлений транспорт антибіотиків в лікуванні острого гнійного пієлонефриту у експериментальних тварин: автореф. дис. канд. мед. наук / Ю.А. Аносова // Саратов гос. мед. ун-т ім. В.И. Разумовського СПб., 2010. – С.22. 2. Афонін А.М. Порівняння активності *in vitro* цефтріаксону різних виробників по відношенню до грам позитивних та грам негативних мікроорганізмів / А.М. Афонін, Т.О. Бірюкова, І.І. Зельмах // Український медичний альманах. 2011. – Т.14, № 3. – С.7-8. 3. Іфтодій А.Г. Профілактика та комплексне лікування ранніх післяопераційних гнійно-запальних ускладнень в порожнинній хірургії / А.Г. Іфтодій, В.П. Пішак, І.І. Сидорчук. – Чернівці: Медакадемія, 2004. – 200 с. 4. Новий підхід в диференціальній діагностиці стадій гострого пієлонефриту / Возанов О.Ф., Пасечніков С.П., Лісовий В.М. [та ін.] // Експериментальна і клінічна медицина. – 2000. – № 1. – С.21-23. 5. Оптимізація тактики ведення хворих на гострий пієлонефрит / О.Ф. Возанов, С.П. Пасечніков, Н.О. Сайдакова [та ін.] // Урологія. – 1998. – №4. – С.4-8. 6. Пасечніков С.П. Застосування Лефлорину при лікуванні гострого пієлонефриту / С.П. Пасечніков, М.В. Мітченко // Мистецтво лікування. 2005. – Т.4, №20. С.104-107. 7. Пательская Е.Н. Фурамаг в ряду антимікробних препаратів, производных 5-нитрофурана: значение для клинической практики / Е.Н. Пательская // Инфекция и антимикробная терапия. – 2004. – Т.6, № 1. – С.24-31. 8. Поиск биологично активных речовин як потенціальних складових нових лікарських засобів / О.В. Вельчинська, Н.І. Парикіна, Н.С. Чумак, В.В. Вільчинська // Український журнал клінічної та експериментальної медицини. – 2011. – Т.6, № 3. – С.106-110. 9. Практика применения антимикробных препаратов у женщин с воспалительными заболеваниями органов малого таза в Российской Федерации / Рафальский В.В., Довгань Е.В., Иванян А.Н. [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 3. – С.88-93. 10. Разумный Р.В. Показники антибіотикорезистентності бактеріальної мікрофлори у хворих на негоспітальну пневмонію, що перебігала на тлі стенозу печінки / Р.В. Розумний // Український медичний альманах. – 2011. – Т.4, № 3. – С.132-138. 11. Сальтанов А.Г. Антибіотикорезистентність клінічних штамів *E. coli* в хірургічних стаціонарах України у 2010 році / А.Г. Сальтанов, М.К. Хайзек, В.Ф. Марієвський // Український медичний часопис. – 2011. – № 4. – С.124-127. 12. Смирнов А.В. Место нитрофуранов в современной терапии инфекций мочевых путей / А.В. Смирнов, И.Г. Катков // Нефрология. – 2006. – Т.10, № 4. – с.103-113.

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
КОНСЕРВАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ОСТРЫХ
ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
ПОЧЕК И ПАРАНЕФРАЛЬНОЙ КЛЕТЧАТКИ**

*А. С. Федорук, В. Т. Степан, И. П. Бурденюк,
В. И. Бурденюк*

Резюме. Экспериментально проведено теоретическое микробиологическое обоснование целесообразности использования электрического поля постоянного тока в лечении острых гнойно-воспалительных заболеваний почек и паранефральной клетчатки.

Ключевые слова: острые воспалительные заболевания почек, микробное число, внутритканевой электрофорез антибиотиков.

**MICROBIOLOGIC REASONING FOR
CONSERVATIVE TREATMENT OF THE ACUTE
PURULENT KIDNEY AND PERIRENAL SPACE
INFLAMMATION**

O.S. Fedoruk, V.T. Stepan, I.P. Burdeniuk, V.I. Burdeniuk

Abstract. A theoretical reasoning for direct current field application in the treatment of acute purulent kidney and perirenal space inflammation was conducted experimentally.

Key words: acute kidney and perirenal space inflammation, bacterial count, intratissue electrophoresis of antibiotics.

**Bukovinian State Medical University
Emergency Hospital of Chernivtsi**

Clin. and experim. pathol. - 2012. - Vol. 11, №3(41). - P.121-125.

Надійшла до редакції 25.08.2012

Рецензент – проф. І.Й. Сидорчук

© О. С. Федорук, В. Т. Степан, І. П. Бурденюк, В. І. Бурденюк, 2012