

## **МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МОДЕЛИ КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННОЙ ИНФЕКЦИИ НА ФОНЕ ИММУНОСУПРЕССИИ**

**Литвинов В.В., Лемкина Л.М., Фрейнд Г.Г., Яковлева Э.В.,  
Коробов В.П., Никонова Н.М.**

*ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия  
имени академика Е.А. Вагнера», Россия, Пермь;  
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН Россия, г. Пермь*

Бактериальная диссеминация из инфицированных бактериальными биопленками катетеров является наиболее частой причиной тяжелых стафилококковых инфекций, среди которых сепсис играет ведущую роль. Особенно часто источником стафилококкового сепсиса у новорожденных и иммунocomпрометированных больных являются инфицированные катетеры. Для разработки методов борьбы с бактериальными биопленками целесообразно изучение модели катетер-ассоциированных инфекций на фоне иммуносупрессии [1].

Цель настоящей работы – создание модели катетер-ассоциированной инфекции в условиях иммуносупрессии циклофосфамидом с последующей морфологической оценкой состояния тканей вокруг катетера.

**Материалы и методы.** Исследования проводились на 42 белых беспородных мышах весом 25-30 грамм, разделенных на контрольную ( $n=21$ ) и опытную ( $n=21$ ) группы. Животным опытной группы была предварительно проведена иммуносупрессия циклофосфамидом. Обеим группам мышей под эфирным наркозом под кожу спины имплантировали фрагмент пластикового катетера длиной 0.5 см. В зависимости от предварительной обработки катетера животные в каждой группе были разделены на четыре подгруппы. Первой подгруппе имплантировали стерильные катетеры, второй подгруппе – катетеры с предварительно выращенными на них в течение двух суток биопленками. Третьей подгруппе вводили стерильные катетеры и затем в операционную рану после ее закрытия вводили 0.5 мл взвеси стафилококка в физиологическом растворе, содержащем  $10^9$  КОЕ/мл. Четвертой подгруппе также вводили стерильные катетеры и затем в операционную рану после ее закрытия ежесуточно в течение трех дней вводили 0.5 мл взвеси стафилококка в физиологическом растворе, содержащем  $10^9$  КОЕ/мл. Животных всех групп забивали на первые, вторые и третий сутки. Проводили гистологическое исследование тканей вокруг катетера, которые фиксировали в 10% растворе формальдегида и обработку проводили по общепринятой методике. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, по Броун-Хоппсу.

### Результаты в группе контроля без введения циклофосфамида.

В первой подгруппе отмечалась последовательная смена фаз воспаления вокруг катетеров в течение трех суток, характерная для развития воспалительных реакций на инородное тело в коже у мышей. Оценку результата проводили в соответствии с критериями Майборода, 1979 [2].

Во второй подгруппе в протекании фаз воспаления имелись отличия от первой подгруппы. Так, в первые сутки воспалительный инфильтрат был выраженным и состоял преимущественно из лейкоцитов. На вторые сутки (в макрофагальную fazу) на поверхности катетера отмечалось разрастание колоний микроорганизмов и клеток – лейкоцитов и макрофагов, в ряде случаев встречались единичные фибробласты. На третьи сутки количество фибробластов увеличилось, отмечалось формирование ограничительного вала (фибропластическая фаза воспаления).

В третьей подгруппе уже на первые сутки отмечалось формирование микробных колоний на поверхности катетера, по периферии которого отмечалось образование воспалительного инфильтрата с большим количеством нейтрофильных гранулоцитов. На вторые сутки объем бактериальных колоний уменьшался, а из инфильтрата практически исчезали нейтрофильные гранулоциты. На третьи сутки в фибропластическую fazу колонии практически исчезли, а в инфильтрате появлялись фибробласти, синтезирующие коллаген, лимфоциты и плазматические клетки.

В четвертой подгруппе морфологические отличия от проявлений воспаления в третьей подгруппе начинались со вторых суток и характеризовались ростом колоний на поверхности катетера с большим количеством макрофагов и лейкоцитов в инфильтрате. На третьи сутки появлялась грануляционная ткань, а объем микробных колоний и выраженность воспалительного инфильтрата резко возросли. Фибропластические изменения были выражены слабо.

### Результаты в группе с циклофосфамидом:

В первой подгруппе отличий в течении воспалительного процесса от контрольной группы практически не наблюдалось, за исключением обилия макрофагов в инфильтрате вокруг катетера к третьим суткам.

Во второй подгруппе отличие заключалось в том, что фибробласты появлялись уже к концу первых суток, в лейкоцитарную fazу воспаления, а к концу вторых суток отмечалось формирование ограничительного вала вокруг катетера. В дальнейшем рост колоний продолжался уже на фоне ограничительного вала, состоящего из фибробластов и коллагеновых волокон.

В третьей подгруппе были следующие отличия от контрольной группы. Инфильтрация в лейкоцитарную fazу на первые сутки была менее выраженной. На вторые сутки рост колоний в отличие от группы контроля не замедлился, но раннее наступление фибропластической fazы было также отмечено. К третьим суткам на фоне слабого развития грануляционной ткани и выраженного слоя фибробластов и коллагеновых волокон отмечался рост колоний, как на поверхности, так и внутри катетера.

В четвертой подгруппе также отмечался сдвиг начала фибропластической fazы ко вторым суткам. Уже на вторые сутки объем колоний резко увеличился. На третьи сутки было отмечено резкое увеличение объема колоний, в том числе и внутри катетера с обилием воспалительного инфильтрата и ограничительным валом из фибробластов и коллагеновых волокон по периферии катетера.

Таким образом, воспалительная реакция на предварительно выращенные биопленки в первые трое суток значительно менее выражена как в контроле, так и в опытной группе, чем на однократное и многократное введение взвеси стафилококка в зону имплантации катетера. Рост колоний микроорганизмов наиболее выражен в группе с циклофосфамидом. В группе с циклофосфамидом очень рано развивается пролиферативная fazа воспаления с формированием соединительнотканной капсулы вокруг катетера. При этом отмечено формирование воспалительного инфильтрата и микробных колоний как снаружи, так и внутри просвета катетера в отличие от группы без иммуносупрессии. Данная модель может использоваться для изучения влияния различных антибактериальных препаратов при катетер-ассоциированной инфекции.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 12-04-01431.*

### Л и т е р а т у р а

1. Майборода А.А. Динамическая структура очага воспаления – Сб. «Морфофизиологические критерии адаптивных состояний» – Иркутск 1979. С.38-49.
2. Rong Wang, Burhan A. Khan, Gordon Y.C. Cheung, Thanh-Huy L. Bach, Max Jameson-Lee, Kok-Fai Kong, Shy Y. Queck, and Michael Otto. Staphylococcus epidermidis surfactant peptides promote biofilm maturation and dissemination of biofilm-associated infection in mice // J Clin Invest. 2011. – 121(1): 238-248.