

ДК 616.61-002-091-092

О.С. Федорук,
В.Ф. Мислицький,
І.П. Бурденюк,
М.С. Степанченко

КОНТАМІНАЦІЯ КОНТРАТЕРАЛЬНОЇ НИРКИ В РІЗНІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ВИДАЛЕННЯ УРАЖЕНОГО ОРГАНА ЗА ГОСТРОГО ОДНОБІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ НИРОК У ЩУРІВ

Вищий державний навчальний заклад
України "Буковинський державний
медичний університет", м. Чернівці

Ключові слова: запалення нирок,
пієлонефрит, контрлатеральна
нирка, інтактна нирка, нефректо-
мія, контамінація, *Escherichia Coli*.

Резюме. Виняткове клінічне значення має чітке розуміння патофізіологічних механізмів локалізації (нерозповсюдження) та міграції мікроорганізмів в інтактну нирку за умов однобічного запального процесу. Дослідження переслідувало мету визначити видовий популяційний склад та кількісні характеристики патологічної мікробіоти в тканині інтактної нирки за однобічного запального процесу нирок у різні терміни після видалення ураженого органа. Експеримент здійснено на 54 статевозрілих нелінійних білих щурах *Rattus Norwegicus*. Всім тваринам моделювали гострий однобічний запальний процес нирок. Для моделювання запального процесу в нирках дослідних щурів був використаний штамп *E.Coli*, виділений з сечі хворої з діагностованою інфекцією сечової системи. З метою визначення ступеню впливу ураженої нирки на мікробну контамінацію інтактного органа, проводили нефректомію з ураженого боку на 10-ту, 14-ту та 21-шу добу експерименту. Концентрації збудників у тканині резидуальної нирки визначали через 4, 7 та 14 діб після видалення ураженого органа. Тваринам контрольної групи також моделювали гостре однобічне запалення нирок, проте нефректомію з ураженої сторони не проводили. Показники порівнювали з аналогічними в інтактній нирці на таку ж добу експерименту у щурів контрольної групи. Визначено, що після видалення ураженої нирки у всіх підгруп тварин змінювалися практично всі показники контамінованості контрлатерального органа по відношенню до таких, де нефректомія не проводилася. Інфекція з інокульованої нирки гематогенним або/і лімфогенним шляхом потрапляла у інтактний контрлатеральний орган і певний час персистувала в ньому. Між 10-ю і 14-ю добою після інокуляції характер інфекційного процесу у контрлатеральному органі змінювався - збудник проникав у тканини нирки спричиняв запальний процес в останній. Видалення інокульованої нирки до переходу інфекційного процесу у контрлатеральній нирці в інвазивну стадію сприяло повній елімінації збудника з контрлатерального органу.

Вступ

Гострі запальні захворювання нирок а ригіої мають своєю передумовою присутність патогенної чи умовно-патогенної флори у тканині нирок [3, 7, 11]. Виходячи з цього, вивчення популяційного якісного і кількісного складу мікроорганізмів, що спричиняють до розвитку таких захворювань має чи не першочергове значення у визначенні лікувальної тактики [4, 13]. При цьому, згідно із світовими даними, популяційний видовий склад мікроорганізмів, етіологічних для гострих запальних захворювань нирок (ГЗЗН), постійно зазнає змін, не викликає сумніву також неод-

наковість притаманної для даних захворювань флори у різних куточках земної кулі [14]. Більше того, склад мікрофлори, що висівають при ГЗЗН, може відрізнятися навіть у межах однієї держави [12, 14]. Окреме питання становлять особливості адаптації та поведінки патогенної та умовно-патогенної флори в умовах одного організму [8, 10]. Зокрема, важливим з клінічної точки зору є чітке розуміння патофізіологічних механізмів локалізації (нерозповсюдження) та міграції мікроорганізмів в інтактну нирку (за умов однобічного процесу) та інші органи, а також умови, необхідні для поширення патологічного

© О.С. Федорук, В.Ф. Мислицький, І.П. Бурденюк, М.С. Степанченко, 2015

процесу [15]. Неоднозначним залишається також питання утворення мікробних асоціатів за певних умов, зокрема виявлення найбільш взаємоафінних мікроорганізмів, та вплив операційної травми на міграцію умовно-патогенної флори в місце запалення [6, 9].

Мета дослідження

Визначити видовий склад та кількісні рівні мікробіоти у тканині контрлатеральної нирки в різні терміни після видалення ураженого органа за гострого однобічного запалення нирок у щурів.

Матеріал і методи

Експеримент здійснено на 42 статевозрілих нелінійних білих щурах *Rattus Norvegicus* чоловічої статі, віком 18-20 тижнів, масою 180-205 г. Всім тваринам моделювали гострий однобічний запальний процес нирок за власною методикою [1, 2]. До основної групи увійшли 24 щурі, останніх поділено на 3 підгрупи: I (n=12) - виконано нефректомію з ураженої сторони на 10-ту добу експерименту; II (n=8) - виконано нефректомію з ураженої сторони на 14-ту добу експерименту; III (n=4) - виконано нефректомію з ураженої сторони на 21-ту добу експерименту. Концентрації мікроорганізмів у тканині резидуальної нирки визначали за рутинними методиками на 14 (Ia, n=4), 21 (Iб, n=4; IIa, n=4) та 28 добу (Iв, n=4; IIб, n=4; III, n=4). Контрольну групу склали 18 тварин, показники контамінації контрлатеральної нирки в яких вивчали на 14 (K1, n=6), 21 (K2, n=6) та 28 добу (K3, n=6). Показники обчислювали статистично за рутинними методиками із використанням критерію Стьюдента.

Для моделювання гострого одностороннього запалення нирок в дослідних щурів був використаний штам *E. Coli*, виділений з сечі хворої з діагностованим ГЗЗН. Штам мав ряд особливостей, які дозволяли порівняно легко відрізнити його від інших штамів кишкової палички (ауто-

штамів) які могли потрапити в дослідний матеріал (сеча, або нирка) з кишечника тварин гематогенним, лімфогенним або висхідним шляхами. [5, 9]. Зокрема, використаний штам був лактозонегативним та мав здатність до росту на середовищі Симонса. За сукупністю інших біохімічних тестів він впевнено був ідентифікований як *E. Coli*. [14]. Приготовано робочу суспензію даного штаму для введення дослідним тваринам, концентрацією від $4,05 \times 10^7$ до $6,55 \times 10^7$ колонієутворюючих одиниць (КУО) в 1 мл. Останню вводили тваринам в паренхіму нирки з однієї сторони в кількості 0,1 мл на 100 г маси щура.

Обговорення результатів дослідження

Згідно з отриманими даними мікробіологічних досліджень введення суспензії *E. Coli* в паренхіму нирки піддослідної тварини викликало інфекційний процес не тільки в інокульованому органі, але й у контрлатеральному. Це ймовірно відбувалося за рахунок поширення збудника від інокульованої до здорової нирки гематогенним та (або) лімфогенним шляхами.

Видалення інокульованого органу на 10-у добу після введення збудника призводило до значного зменшення концентрації збудника в контрлатеральній нирці на 14-у добу спостережень (через 4 доби після операції) у порівнянні з не оперованими тваринами, різниця, однак, не була статистично достовірною (табл. 1). На 21-шу добу дослідження, 11 діб після видалення ураженого органу, концентрації всіх виділених збудників з тканини резидуальної нирки були нижчими від таких у групі порівняння, тоді як на 28-му добу (14 діб після нефректомії) з контрлатеральної нирки не було виділено практично жодних мікроорганізмів. Тобто нефректомія з ураженого боку призвела до ліквідації інфекційного процесу у контрлатеральній нирці. Це досить несподіваний результат. Адже з контрлатеральної нирки у не оперованих щурів у всі дні спос-

Таблиця 1

Тканинні концентрації виділених мікроорганізмів із контрлатеральної нирки тварин контрольної групи (нефректомія не проводилась) та щурів, котрим видалено уражену нирку на 10-ту добу експерименту, lg КУО ($\bar{x} \pm S_x$)

Виділені мікроорганізми	14 доба		21 доба		28 доба	
	K ₁ (n=6)	Ia (n=4)	K ₂ (n=6)	Iб (n=4)	K ₃ (n=6)	Iв (n=4)
<i>E. Coli</i> (уведений штам)	3,75±0,38	3,28±0,34 p<0,05	3,58±0,38	1,78±1,22 p<0,01	3,74±0,46	н.р.
<i>E. Coli</i> (аутоштам)	2,70±2,10	2,31±1,59	2,81±2,21	1,50±1,73	2,60±2,07	0,58±1,17
<i>E. Faecalis</i>	2,01±2,24	1,65±1,91	1,72±1,90	0,65±1,30	1,70±1,96	н.р.
<i>P. Mirabilis</i>	н.р.	н.р.	н.р.	н.р.	1,58±1,79	н.р.

Примітка: значення p зазначено у випадку достовірної різниці; н.в. – немає росту

тережень виділявся штучно введений штам *E. Coli* у значній кількості. Можливе пояснення цьому - відмінність у характері інфекційного процесу в інокульованій та контрлатеральній нирках. Швидше за все, в інокульованій нирці при введенні причинного штаму відразу розвивався запальний процес. У контрлатеральній нирці, натомість, інфекційний агент персистував.

Видалення інокульованої нирки у пізніші терміни - на 14-ту добу після інфікування - уповільнювало темпи звільнення контрлатеральної нирки від *E. Coli*. Через 7 діб після операції (21 доба спостережень) у контрлатеральній нирці кількість збудника була дещо нижчою у порівнянні з аналогічним показником у неоперованих тварин (табл. 2). На 14 добу після нефректомії (28 доба

спостережень) кількісні дані ідентифікованих бактерій у контрлатеральній нирці експериментальній тварин показали зниження, проте видовий склад мікробіоти залишався подібним до такого в не оперованих тварин. Група тварин, що піддалася нефректомії з ураженого боку на 21-шу добу дослідження, 7 днів після виконання операції, не показала практично жодної різниці показників контамінації контрлатеральної нирки по відношенню до контрольних тварин (табл. 2).

Отримані дані свідчать про те, що з плином часу характер інфекційного процесу в контрлатеральній нирці змінювався. На початку збудник персистував у нирці (можливо навіть не в інтерстицію, а лише в каналцевих структурах) не

Таблиця 2

Тканинні концентрації виділених мікроорганізмів із контрлатеральної нирки тварин контрольної групи (нефректомія не проводилась) та щурів, котрим видалено уражену нирку на 14-ту і 21-шу доби експерименту, lg КУО ($x \pm Sx$)

Виділені мікроорганізми	Нефректомія на 14 добу				Нефректомія на 21 добу	
	21 доба		28 доба		28 доба	
	K ₂ (n=6)	Па (n=4)	K ₃ (n=6)	Пб (n=4)	K ₃ (n=6)	Пв (n=4)
<i>E. Coli</i> (уведений штам)	3,58± 0,38	3,30± 0,35	3,74± 0,46	1,47± 1,70 p<0,01	3,74± 0,46	3,64± 0,39
<i>E. Coli</i> (ауто штам)	2,81± 2,21	2,22± 1,49	2,60± 2,07	1,42± 1,64	2,60± 2,07	2,69± 1,85
<i>E. Faecalis</i>	1,72± 1,90	1,48± 1,71	1,70± 1,96	0,53± 1,06	1,70± 1,96	1,65± 1,92
<i>P. Mirabilis</i>	н.р.	н.р.	1,58± 1,79	0,98± 1,95	1,58± 1,79	1,87± 2,18

Примітка: значення *p* зазначено у випадку достовірної різниці; н.р. – немає росту

розмножуючись там, і не викликаючи запального процесу. Він легко елімінувався із організму при видаленні постійного джерела інфекції - інокульованої нирки. З плином часу відбувалося проникнення збудника (інвазія) у ниркову паренхіму та розвиток запального процесу в останній. За таких умов елімінації збудника з контрлатеральної нирки не відбувалося навіть після видалення інокульованого органу. На основі наших спостережень виявлено певний "критичний рубіж" для переходу персистуючого характеру інфекційного запалення нирок у інвазивну стадію - між 10 і 14 добою після інокуляції тварини.

Висновки

1. Інфекція з інокульованої нирки гематогенним або/і лімфогенним шляхом потрапляла в інтактний контрлатеральний орган і певний час персистувала в ньому.

2. Між 10-ю та 14-ю добами після інокуляції характер інфекційного процесу в контрлатеральному органі змінювався із транзитного на інвазивний.

3. Видалення інокульованої нирки до переходу інфекційного процесу в контрлатеральній нирці в інвазивну стадію (на 10-ту добу) сприяло практично повній елімінації збудника з контрлатерального органу до 28-ї доби.

Перспективи подальших досліджень

Перспективним є подальше дослідження гістопатологічних та функціональних змін контрлатеральної нирки в різні терміни після видалення ураженого органу за гострого одностороннього запального процесу нирок у щурів.

Література. 1. Пат. 72206 Україна, МПК: G09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання вторинного пієлонефриту / Федорук О.С., Степан В.Т., Степанченко М.С., Візнюк В.В.: заявник і власник Буковинський державний медичний

університет МОЗ України, заявл. 03.02.2012, опубл. 10.08.2012, бюл № 15/2012. 2. Степанченко М.С. Спосіб моделювання гострого вторинного обструктивного пієлонефриту у щурів / М.С. Степанченко, О.С. Федорук / Матеріали 95-ої підсумкової конференції професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету - присвяченої 70-річчю БДМУ (Чернівці, 17,19, 24 лютого 2014 р.). - Чернівці: Медуніверситет. - 2014. - с. 131-132. 3. Alos J.I. Epidemiology and etiology of urinary tract infections in the community. Antimicrobial susceptibility of the main pathogens and clinical significance of resistance / J.I. Alos // *Enferm Infecc Microbiol Clin.* - 2005. - Vol.23, Suppl. 4. - P. 3-8. 4. Berger R.E. Intracellular bacterial communities of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis / R.E. Berger // *J. Urol.* - 2005. - Vol. 174, № 5. - P. 1843. 5. Bidet P. Virulence factors and pathophysiology of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* / P. Bidet, S. Bonarcorsi, E. Bingen // *Arch. Pediatr.* - 2012. - Vol.19, Suppl 3. - P. 80-92. 6. Bojic-Milicevic G. Common errors in diagnosis and management of urinary tract infections - microbiological aspects. / G. Bojic-Milicevic, M. Mikov, R. Dautovic // *Med. Pregl.* 2005. - Vol. 58. - №7-8. - P. 380-387. 7. Change of antimicrobial susceptibility among *Escherichia coli* strains isolated from female patients with community-onset acute pyelonephritis / S.K. Lim, I.W. Park, W.G. Lee [et al.] // *Yonsei Med. J.* - 2012. - Vol.53(1). - P. 164-171. 8. *Escherichia coli* from urine of female patients with urinary tract infections is competent for intracellular bacterial community formation / C.K. Garo-falo, T.M. Hooton, S.M. Martin [et al.] // *Infect Immun.* - 2007. - Vol.75, №1. - P. 52-60. 9. *Escherichia coli*-mediated impairment of ureteric contractility is UPEC-specific // R.V. Floyd, M. Upton, S.J. Hultgren [et al.] // *J. Infect. Dis.* - 2012. - Vol.206(10). - P. 589-596. 10. Fiinstück R. The interaction of urinary tract infection and renal insufficiency. / R. Fiinstück, U. Ott, K.G. Naber // *Int. J. Antimicrob. Agents.* - 2006. - Vol. 28. - Suppl 1. - P. S72-77. 11. Impairment of the biomechanical compliance of P pili: a novel means of inhibiting uropathogenic bacterial infections? Immune Modulation by Group B *Streptococcus* Influences Host Susceptibility to Urinary Tract Infection by Uropathogenic *Escherichia coli* / J.E. Klinth, J.S. Pinkner, S.J. Hultgren [et al.] // *Infect. Immun.* - 2012. - Vol.80(12). - P. 4186-4194. 12. In vivo susceptibility of ESBL producing *Escherichia coli* to ceftriaxone in children with acute pyelonephritis / A. Peco-Antic, D. Paripovic, S. Buljugic [et al.] // *Srp. Arh. Celok Lek.* - 2012. - Vol.140(5-6). - P. 321-325. 13. Kostakioti M. Molecular blueprint of uropathogenic *Escherichia coli* virulence provides clues toward the development of anti-virulence therapeutics / M. Kostakioti, S.J. Hultgren, M. Hadjifrangiskou // *Virulence.* - 2012. - Vol. 3(7). - P. 45-51. 14. Oteo J. Extended-spectrum [beta]-lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact / J. Oteo, M. Perez-Vazquez, J. Campos // *Curr. Opin. Infect. Dis.* - 2010. - Vol.23(4). - P. 320-326. 15. Ramchandani M. Possible animal origin of human-associated, multidrug resistant, uropathogenic *Escherichia coli* / M. Ramchandani // *CID.* - 2005. -Vol. 40. - P. 251-257.

КОНТАМИНАЦИЯ КОНТРАЛАТЕРАЛЬНОЙ ПОЧКИ В РАЗНЫЕ ТЕРМИНЫ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ ПОРАЖЕННОГО ОРГАНА ПРИ ОСТРОМ ОДНОСТОРОННЕМ ВОСПАЛЕНИИ ПОЧЕК У КРЫС

*А.С. Федорук, В.Ф. Мислицкий, И.П. Бурденюк,
М.С. Степанченко*

Резюме. Исключительное клиническое значение имеет четкое понимание патофизиологических механизмов локализации (нераспространения) и миграции микроорганизмов в интактную почку в условиях одностороннего воспалительного процесса. Исследование преследовало цель определить видовой популяционный состав и количественные характеристики патологической микрофлоры в ткани интактной почки при одностороннем воспалительном процессе почек в разные сроки после удаления пораженного органа. Эксперимент проводился на 54 половозрелых

нелинейных белых крысах *Rattus Norwegicus*. Всем животным моделировали острый односторонний воспалительный процесс почек. Для моделирования воспалительного процесса в почках исследуемых крыс был использован штамм *E.Coli*, выделенный из мочи больного с диагностированной инфекцией мочевой системы. С целью определения степени влияния пораженной почки на контаминацию контралатерального органа, проводили нефрэктомии с пораженной стороны на 10-е, 14-е и 21-е сутки эксперимента. Концентрации возбудителей оставшейся почки определяли через 4, 7 и 14 суток после удаления пораженного органа. Животным контрольной группы также моделировали острое одностороннее воспаление почек, однако нефрэктомии с пораженной стороны не проводили. Показатели сравнивали с аналогичными в интактной почке в те же сутки эксперимента у крыс контрольной группы. Определено, что после удаления пораженной почки у всех подгрупп животных изменялись практически все показатели контаминации контралатерального органа по отношению к таким, где нефрэктомия не проводилась. Инфекция из инокулированной почки гематогенным и/или лимфогенным путем попадала в интактный контралатеральный орган и некоторое время в нем персистировала. Между 10-ми и 14-ми сутками после инокуляции характер инфекционного процесса в контралатеральном органе менялся - возбудитель, по-видимому, проникал в ткани почки и вызывал воспалительный процесс в органе. Раннее удаление пораженного органа, до перехода инфекционного процесса в контралатеральной почке в инвазивную стадию, способствовало полной элиминации возбудителя из контралатерального органа.

Ключевые слова: воспаление почек, пиелонефрит, контралатеральная почка, интактная почка, нефрэктомия, контаминация, *Escherichia Coli*.

BACTERIAL CONTAMINATION OF THE INTACT KIDNEY IN COURSE OF THE ACUTE UNILATERAL KIDNEY INFLAMMATION IN RATS: DIFFERENT TIME FRAMES AFTER NEPHRECTOMY ON THE AFFECTED SIDE

*O.S. Fedoruk, V.F. Myslytskiy, I.P. Burdeniuk,
M.S. Stepanchenko*

Abstract. Exceptionally clinically important is clear understanding of the pathophysiological mechanisms for localization and migration of pathologic microorganisms towards the intact kidney in course of the unilateral inflammatory process. The study aimed to determine the intact kidney's pathogenic species composition and numerosity in course of rat acute unilateral kidney inflammation, different time frames after the affected organ removal. The experiment was carried out on 54 mature nonlinear white rats *Rattus Norwegicus*. In all animals an acute unilateral kidney inflammation has been modeled. For modeling of the acute unilateral kidney inflammation in experimental rats, an *E.Coli* strain was used. The pathogen was previously isolated from urine in patients with the diagnosed urinary tract infection. In order to determine the affected kidney influence on the intact organ microbial contamination, nephrectomy on the affected side was performed on the 10th, 14th and 21st days. Bacterial concentrations in the residual kidney tissue were determined 4, 7 and 14 days after nephrectomy. Control group constituted animals without nephrectomy. Scores were compared to the respective ones of the intact kidney in control group, on the same day of experiment. Reliable changes of almost all microbiologic contamination scores were detected after removal of the affected organ. Infection of the inoculated kidney spread onto intact contralateral organ by the hematogenous and/

or lymphogenous routes and persisted there for some specific time. The nature of the infection in the contralateral kidney changed between the 10th and 14th days after inoculation - the agent apparently penetrated the kidney tissue and developed inflammation. Removal of the inoculated kidney timely, before the infection of the intact organ has progressed to its invasive stage, facilitated complete elimination of the pathogen in the contralateral kidney by the 28th day.

Key words: kidney inflammation, pyelonephritis, contralat-

eral kidney, intact kidney, nephrectomy, bacterial contamination, Escherichia Coli.

**Higher State Educational Establishment of Ukraine
"Bukovinian State Medical University", Chernivtsi**

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №2 (52). - P.226-230.

Надійшла до редакції 28.05.2015

Рецензент – проф. Ю.Є. Роговий

© О.С. Федорук, В.Ф. Мислицький, І.П. Бурденюк,
М.С. Степанченко, 2015