

Влияние криоконсервированного лейкоконцентрата кордовой крови человека на выраженность эндогенной интоксикации при остром гнойном перитоните

UDC 615.361.013.68.014.41:612.017.1:616.381-002

K.A. GOLTSEV*, O.M. BABINETS, O.YU. KOZHINA, L.V. OSTANKOVA, A.N. GOLTSEV Effect of Cryopreserved Human Cord Blood Leucoconcentrate on Manifestation of Endogenous Intoxication at Acute Purulent Peritonitis

Показано, что при экспериментальном остром гнойном перитоните у животных релапаротомия, сочетанное введение ампициллина и криоконсервированного лейкоконцентрата кордовой крови обеспечивают эрадикацию крови от микроорганизмов, выраженное снижение колонизации тонкого кишечника и инфицированности брюшной полости патогенными и условно-патогенными бактериями, уменьшение дистрофических и некротических процессов в брюшной полости.

Ключевые слова: криоконсервированный лейкоконцентрат кордовой крови, гнойный перитонит, релапаротомия, воспаление брюшины, патогенные и условно-патогенные бактерии.

Доведено, що при експериментальному гострому гнійному перитоніті у тварин релапаротомія, комбіноване введення ампіциліну та криоконсервованого лейкоконцентрату кордової крові забезпечують ерадикацію крові від мікроорганізмів, значне зниження колонізації тонкого кишечника та інфікованості черевної порожнини патогенними та умовно-патогенними бактеріями, зменшення дистрофічних і некротичних процесів у черевній порожнині.

Ключові слова: криоконсервований лейкоконцентрат кордової крові, гнійний перитоніт, релапаротомія, запалення черевини, патогенні та умовно-патогенні бактерії.

At experimental acute purulent peritonitis in animals the relaparotomy, combined injection of ampicillin and cryopreserved cord blood leucoconcentrate has been shown to provide eradication of blood from microorganisms, manifested reduction of colonization of small intestine and infection of abdominal cavity with pathogenic and opportunistic bacteria, decrease in dystrophic and necrotic processes in abdominal cavity.

Key words: cryopreserved cord blood leucoconcentrate, purulent peritonitis, relaparotomy, peritoneal inflammation, pathogenic and opportunistic bacteria.

В последнее время эндогенную интоксикацию считают одной из основных причин развития многих патологических процессов, различных инфекционных заболеваний, в частности перитонита [4, 7, 10, 13, 19].

В патогенезе перитонита большую роль играет нарушение барьерной функции стенки тонкой кишки. Доказано, что микроорганизмы кишечника через мезентериальные лимфатические узлы и воротную вену попадают в общий кровоток, вызывая развитие инфекции, сепсиса и эндогенной интоксикации [25, 26]. При попадании микроорганизмов в брюшину или при ее травматическом повреждении развивается как местное воспаление, так и комплексная реакция всего организма, сопровождающаяся нарушением всех его функций по типу "порочного круга". Вследствие этого происходят нарушение целостности органов брюшной

Recently endogenous intoxication has been considered as one of the main causes of development of many pathological processes, different infection diseases, in particular, peritonitis [4, 7, 10, 13, 19].

In peritonitis pathogenesis the disordered barrier function of small intestine wall plays a major role. It has been proved that microorganisms in a bowel through mesenteric lymph nodes and portal vein enter into general blood flow, causing an infection, sepsis and endogenous intoxication [25, 26]. In case of microbial contamination of the peritoneum, or its trauma, both local inflammation and a complex response of the whole organism are developed and accompanied by the impairments of its all functions according to the "vicious circle" type. As a result, there are the disorders in integrity of peritoneal cavity organs; enteroparesis; intoxication, changed indices of aqueous-electrolyte exchange and redox state; immune de-

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+38 057) 373-57-89, факс: (+38 057) 373-30-84, электронная почта: cryopato@rambler.ru

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 5789, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryopato@rambler.ru

полости; парез кишечника; интоксикация; изменение показателей водно-электролитного обмена и кислотно-основного состояния; иммунодепрессия; расстройство гемодинамики, микроциркуляции и тканевого дыхания с возникновением гипоксии; нарушение всех видов обмена с последующим развитием синдрома полиорганной недостаточности [2, 3, 10, 13]. При классификации перитонита учитывают этиологический фактор, способ проникновения инфекции в брюшную полость, характер экссудата, распространенность, стадию и клиническое течение заболевания [17]. В начальной (реактивной) стадии перитонита интоксикация организма обусловлена продуктами деградации белка, клеточных структур очага воспаления, медиаторами воспаления, микроорганизмами, а также продуктами их жизнедеятельности и распада. Поступление микроорганизмов в кровь приводит к напряжению защитно-компенсаторных механизмов организма. При этом изменяется двигательная функция кишечника. В связи с нарушением барьерной функции кишечной стенки, угнетением секреторного иммунитета в кишечнике, развивающимся дисбактериозом, возникновением симбионтного пищеварения сам кишечник и становится источником интоксикации и токсемии [2, 11, 12]. Чрезмерная колонизация бактериями тонкой кишки – один из основных механизмов развития синдрома эндогенной интоксикации [16, 19]. При перитоните видовой состав и количественное содержание колонизированных бактерий тонкой кишки приближаются к показателям микробной флоры толстой кишки [15].

Лечение эндогенной интоксикации при перитоните, осложняющей его течение, – одна из наиболее сложных и актуальных проблем современной медицины [20, 24]. Устранение причины перитонита и борьба с интоксикацией являются решающим моментом в лечении этого заболевания [2–4, 13]. В комплексной терапии перитонитов одними из главных мер являются применение антибиотиков и проведение мероприятий по дезинтоксикации [2, 4, 15, 20]. Вопрос об эффективности иммуномодулирующей терапии остается открытым [3, 5]. Ранее был показан терапевтический эффект от введения клеток кордовой крови [1, 22, 23] при септических и воспалительных заболеваниях, однако возможность применения криоконсервированной кордовой крови при перитонитах не изучалась.

Цель работы – сравнительная оценка клинического течения микробного обсеменения, патоморфологических изменений ткани брюшной полости при экспериментальном остром гнойном перитоните у крыс после лечения антибиотиком либо в сочетании с криоконсервированным лейкоконцентратом кордовой крови человека (ЛКК).

pression, disorder of microcirculation, hemodynamics and tissue respiration with hypoxia appearance; disorders of all types of metabolism with following development of the syndrome of polyorgan insufficiency [2, 3, 10, 13]. When classifying peritonitis there are taken into account the etiological factor, way of infection penetration into a peritoneal cavity, character of exudates, prevalence, stage and clinical course of the disease [17]. At an initial (reactive) stage of peritonitis an organism intoxication is stipulated with the products of protein degradation, cell structures of inflammation focus, inflammation mediators, microorganisms, as well as by the products of their vital activity and decay. Penetration of microorganisms into blood results in the straining of protective and compensatory mechanisms of an organism. Herewith there is a disorder in bowel motor function. Due to the impairment of intestinal barrier function, suppression of secretory immunity in a bowel, developing dysbacteriosis, appearance of symbiotic digestion the bowel itself becomes the source of intoxication and toxemia [2, 11, 12]. Excessive colonization of small intestine with bacteria is one of basic mechanisms of endogenous intoxication syndrome development [16, 19]. At peritonitis the composition of species and quantitative content of colonized bacteria of small intestine approach to those of large bowel microbial flora [15].

Treatment of endogenous intoxication aggravating the course of peritonitis is one of the most complicated and actual tasks of current medicine [20, 24]. The elimination of the peritonitis cause and controlling the intoxication are the decisive moments in treating this disease [2–4, 13]. In a combined therapy of peritonites one of the main links is the application of antibiotics and detoxication measures [2, 4, 15, 20]. The question about the efficiency of immune modulating therapy has remained open [3, 5]. Recently reports there was shown the therapeutic effect of the introduction of cord blood cells [1, 22, 23] at septic and inflammatory diseases, however, the possibility of application of cryopreserved cord blood at peritonitis has not been studied.

The research aim is to comparatively assess the clinical course of microbial contamination, pathomorphological changes of abdominal cavity at experimental acute purulent peritonitis in rats after antibiotic treatment or in combination with cryopreserved human cord blood leuconcentrate (CBL).

Materials and methods

The investigations were performed in 6-month-old Wistar rats of 160–180 g weight in accordance with General Ethical Principles of Experiments in Animals, approved by National Congress on Bioethics (Kiev,

Материалы и методы

Работа выполнена на 6-месячных крысах линии Вистар массой 160–180 г в соответствии с “Общезначительными принципами экспериментов на животных”, одобренными Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2003 г.) [8] и согласованными с положениями “Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985 г.). Лабораторные животные содержались в условиях вивария ИПКиК НАН Украины и были использованы в экспериментальной работе согласно рекомендациям [9].

Моделировали острый гнойный перитонит (ОГП) путем перевязки и отсечения червеобразного отростка, который оставляли в брюшной полости [18]. Крыс оперировали под общим тиопенталовым наркозом. Лейкоконцентрат кордовой крови человека получали путем пассивной седиментации эритроцитов в градиенте плотности с добавлением полиглюкина [21] и криоконсервировали на программном замораживателе УОП-6 (СКТБ с ОП ИПКиК НАН Украины) по двухэтапной программе, разработанной и запатентованной в ИПКиК НАН Украины [21]. Суспензию размораживали на водяной бане при температуре 40–41°C [6].

Все крысы были разделены на 5 групп: 1 – интактный контроль; 2 – животные с ОГП, которым через 24 ч после операции проводили релапаротомию и санацию брюшной полости 0,02%-м водным раствором фурацилина; 3 – крысы с ОГП, которым после релапаротомии внутримышечно вводили ампициллин (“Дарница”, Украина) в дозе 40 мг/кг массы тела; 4 – животные с ОГП, которым после релапаротомии одновременно с инъекцией ампициллина внутривенно вводили ЛКК в объеме 0,3 мл ($5-6 \times 10^6$ клеток); 5 – крысы с ОГП, которым проводили релапаротомию и внутривенно вводили ЛКК в объеме 0,3 мл без антибиотика.

Проводили комплексное бактериологическое исследование содержимого тонкой кишки, венозной крови, перитонеального экссудата. Венозную кровь у крыс получали из хвостовой вены. Выделение, идентификацию и количественное определение содержания микробов в 1 мл экссудата осуществляли по классическим методикам, утвержденным МЗ Украины [4, 7, 11, 12]. Чувствительность выделенных изолятов к антибиотику определяли диско-диффузионным методом Кирби-Бауэра [15].

Морфологическое исследование париетальной брюшины проводили с использованием гистологических и морфометрических методов [14]. Ткань фиксировали в 10%-м нейтральном формалине. Серийные срезы толщиной 7–9 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, азур-II эозином по Романовскому [14]. Анализировали гистологические препараты в световом микроскопе “Primo Star”

(2003) and coordinated with the statements of European Convention on the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Purposes (Strasbourg, 1985). Laboratory animals were kept under vivarium conditions of the IPC&C of the National Academy of Sciences of Ukraine and used in the research according to the recommendations [9].

Acute purulent peritonitis (APP) was simulated by means of ligation and excision of cecal appendage, which was left in abdominal cavity [18]. The surgery in rats was performed with general thiopental narcosis. Human cord blood leucoconcentrate (CBL) was obtained by passive sedimentation of erythrocytes in polyglucinum density gradient [21] and was cryopreserved by means of programmable freezer UOP-6 (produced by Special Design and Construction Bureau with Experimental Unit of the IPC&C) according to two-step program designed and patented at IPC&C the National Academy of Sciences of Ukraine [21]. The suspension was thawed on water bath at 40–41°C [6].

All rats were divided into 5 groups: 1 – intact control; 2 – animals with APP, which 24 hrs later the surgery were treated with laparotomy and sanitation of abdominal cavity with 0.02% Furacinum aqueous solution; 3 – animals with APP, which after relaparotomy were intramuscularly introduced with Ampicillin in a dose of 40 mg/kg of body mass; 4 – animals with APP, which after relaparotomy simultaneously with Ampicillin injection intravenously were introduced with CBL in a volume of 0.3 ml ($5-6 \times 10^6$ cells); 5 – the rats with APP, to those relaparotomy was performed and intravenously injected with CBL in a volume of 0.3 ml ($5-6 \times 10^6$ cells) with no antibiotic.

There was performed a complex bacteriological study of the contents of small intestine, venous blood, peritoneal exudates. Venous blood in rats was taken from a caudal vein. Isolation, identification and quantitative examination of the content of microbes in 1 ml of exudates was accomplished according to classic methods, approved by the Ministry of Health Care of Ukraine [4, 7, 11, 12]. Sensitivity of isolates to antibiotic was found by Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test [15].

Parietal peritoneum was morphologically studied using histological and morphometric methods [14]. The tissue was fixed in 10% neutral formalin. Multiple sections of 7–9 mm width were stained with hematoxylin and eosin, azur-II eosin according to Romanowsky [14]. Histological analysis of sections was performed using light microscopes Primo Star (Carl Zeiss) and LOMO-2. Morphometry of necrosis foci areas and quantitation of relative amount (in shares) of neutrophil polymorphonuclear leukocytes (NPNL) in infiltrates was done using ocular micrometer.

(“Carl Zeiss”, Германия) и ЛОМО-2. Морфометрическую оценку площади очагов некроза и подсчет относительного количества (указано в долях) нейтрофильных полиморфоядерных лейкоцитов (НПЯЛ) осуществляли с использованием окуляр-микрометра по трем полям зрения.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по методу Стьюдента-Фишера с помощью программы Statistica 7.0, (“Stat Soft Inc.”), адаптированной к поставленным задачам и специфике данных.

Результаты и обсуждение

При бактериологическом исследовании пристеночной микрофлоры тонкого кишечника после операции было установлено выраженное изменение микробного пейзажа по сравнению с контролем. Так, в норме в тонком кишечнике у крыс были обнаружены преимущественно бифидобактерии, лактобактерии в концентрации 10^5 – 10^8 КОЕ/мл и эубактерии, энтерококки, порфиромонады, анаэробные кокки в концентрации 10^3 – 10^5 КОЕ/мл, что соответствует данным литературы [9, 12].

Через сутки после операции (группа 2) в муцине тонкого кишечника были выявлены бактерии: *Escherichia coli*, рода *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Bacteroides* и *Fusobacterium* (табл. 1).

На 3-и сутки после операции содержание указанных бактерий в муцине тонкого кишечника повышалось в 10–100 раз и сохранялось в этой концентрации у выживших животных в течение всего срока наблюдения.

У выживших животных, которым проводили релапаротомию и санацию брюшной полости раствором фурацилина (группа 2), лишь на 5-е сутки после проведения манипуляций концентрация *E. coli* и *Enterococcus* снизилась в 100 раз.

У выживших животных, которым проводили релапаротомию и внутримышечное введение ампициллина (группа 3), на 5-е сутки концентрация бактерий, за исключением родов *Klebsiella* и *Fusobacterium*, снижалась в 10–100 раз.

В группе животных, которым проводили релапаротомию и вводили ампициллин вместе с ЛКК (группа 4), на 5-е сутки после релапаротомии концентрация всех видов бактерий в тонком кишечнике снижалась в 10–100 раз. При этом достоверное уменьшение числа микробных клеток наблюдали на 1–3-и сутки.

У животных группы 5, которым проводили релапаротомию и вводили ЛКК, на 5-е сутки после релапаротомии в 10–100 раз снизилась концентрация *E. coli* и бактерий родов *Enterococcus* и *Bacteroides*.

При бактериологическом исследовании перитонеального экссудата у крыс с ОГП были вы-

Experimental data were statistically processed according to Student-Fisher method by means of Statistica 7.0 software (Stat Soft Inc.), adapted for the tasks set and the data specificity.

Results and discussion

Bacteriological study of parietal microflora of small intestine after surgery revealed a manifested change of microbic picture if compared with the control. So in the norm in small intestine of rats there were revealed mostly bifidobacteria, lactobacteria in concentration of 10^5 – 10^8 CFU/ml and eubacteria, enterococci, porfiromonadaceae, anaerobic cocci in concentration of 10^3 – 10^5 CFU/ml, that is in the accordance with the published data [9, 12].

In 24 hrs after surgery (group 2) in mucin of small intestine the following bacteria were found: *Escherichia coli*; *Enterococcus*; *Staphylococcus*; *Proteus*; *Klebsiella*; *Bacteriodes* and *Fusobacterium* (Table 1).

To the 3rd day after surgery the content of the mentioned bacteria in small intestine mucin increased in 10–100 times and kept in this concentration in the survived animals for the whole observation term.

In the survived animals in which a relaparotomy and sanation of abdominal cavity with Furacinum solution (group 2) were performed, just to the 5th day after manipulations the concentration of *E.coli* and *Enterococcus* reduced in 100 times.

In the survived animals to which the relaparotomy and intramuscular injection of Ampicillin were done (group 3) to the 5th day the concentration of bacteria excluding *Klebsiella* and *Fusobacterium*, reduced in 10–100 times.

In the group of animals with relaparotomy and Ampicillin and CBL injection (group 4) to the 5th day after relaparotomy the concentration of all the types of bacteria in small intestine decreased in 10–100 times. Herewith the statistically significant number of microbic cells was observed to the 1st–3rd days.

In the animals of the group 5 with relaparotomy and CBL injection to the 5th day after relaparotomy the concentration of *E.coli* and bacteria of *Enterococcus* and *Bacteriodes* reduced in 10–100 times.

During bacteriological study of peritoneal exudate in the rats with APP the same types of bacteria as those from small intestine were isolated. Highest concentrations were found for following bacteria: *E.coli*, *Enterococcus* and *Staphylococcus* (Table 2). In the animals of the groups 2 and 3 the species composition of microflora of peritoneal exudates during 5 days after relaparotomy was not changed, but the concentration of bacteria decreased statistically and significantly. In group 4 the concentration of bacteria even in 24 hrs after relaparotomy statistically and significantly reduced. To the 3rd day *Klebsiella* bacteria were absent and to the 5th day *Bacteriodes* ones.

Таблица 1. Показатели пристеночной микрофлоры тонкого кишечника крыс с ОГП при различных методах терапии
Table 1. Indices of parietal microflora of small intestine of rats with APP under different treatment methods

Группа животных Group of animals	Микроорганизмы Microorganisms	Количество бактерий, КОЕ/мл Number of bacteria, CFU/ml			
		1 сутки после операции 1 day after surgery	1 сутки после релапаротомии 1 day after relaparotomy	3 суток после релапаротомии 3 days after relaparotomy	5 суток после релапаротомии 5 days after relaparotomy
Интактная (контроль) Intact control	<i>Escherichia coli</i>	$(1,6 \pm 0,2) \times 10^8$	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^9$	$(5,1 \pm 0,2) \times 10^{10}$	$(4,0 \pm 0,2) \times 10^{10}$
	<i>Enterococcus spp</i>	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^7$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^8$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^9$	$(1,3 \pm 0,2) \times 10^9$
	<i>Staphylococcus spp</i>	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,7 \pm 0,2) \times 10^6$	$(2,9 \pm 0,3) \times 10^7$	$(5,1 \pm 0,3) \times 10^7$
	<i>Proteus spp</i>	$(2,5 \pm 0,2) \times 10^3$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^5$	$(5,5 \pm 0,2) \times 10^6$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^6$
	<i>Klebsiella spp</i>	$(1,8 \pm 0,2) \times 10^3$	$(4,4 \pm 0,2) \times 10^5$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^6$	$(7,2 \pm 0,3) \times 10^6$
	<i>Bacteroides spp</i>	$(2,4 \pm 0,2) \times 10^{10}$	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^{11}$	$(7,2 \pm 0,3) \times 10^{11}$	$(3,8 \pm 0,3) \times 10^{11}$
	<i>Fusobacterium spp</i>	$(3,2 \pm 0,2) \times 10^8$	$(3,6 \pm 0,2) \times 10^{10}$	$(4,2 \pm 0,2) \times 10^{11}$	$(6,0 \pm 0,3) \times 10^{10}$
ОГП APP	<i>Escherichia coli</i>	—	$(1,8 \pm 0,3) \times 10^9$	$(3,2 \pm 0,3) \times 10^9$	$(1,6 \pm 0,3) \times 10^7$
	<i>Enterococcus spp</i>	—	$(6,2 \pm 0,3) \times 10^8$	$(4,6 \pm 0,3) \times 10^8$	$(5,1 \pm 0,2) \times 10^6$
	<i>Staphylococcus spp</i>	—	$(4,2 \pm 0,2) \times 10^4$	$(4,8 \pm 0,3) \times 10^{11}$	$(3,7 \pm 0,3) \times 10^4$
	<i>Proteus spp</i>	—	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,4 \pm 0,3) \times 10^5$
	<i>Klebsiella spp</i>	—	$(4,8 \pm 0,3) \times 10^5$	$(3,9 \pm 0,4) \times 10^5$	$(4,0 \pm 0,2) \times 10^5$
	<i>Bacteroides spp</i>	—	$(2,9 \pm 0,3) \times 10^{11}$	$(3,4 \pm 0,2) \times 10^{11}$	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^{11}$
	<i>Fusobacterium spp</i>	—	$(4,0 \pm 0,3) \times 10^{10}$	$(3,6 \pm 0,3) \times 10^{10}$	$(1,5 \pm 0,2) \times 10^{10}$
ОГП + Ампициллин APP + Ampicillin	<i>Escherichia coli</i>	—	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^9$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^8$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^7$
	<i>Enterococcus spp</i>	—	$(5,0 \pm 0,2) \times 10^7$	$(3,9 \pm 0,3) \times 10^6$	$(1,1 \pm 0,3) \times 10^6$
	<i>Staphylococcus spp</i>	—	$(1,2 \pm 0,2) \times 10^7$	$(4,5 \pm 0,3) \times 10^5$	$(1,4 \pm 0,2) \times 10^3$
	<i>Proteus spp</i>	—	$(3,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(3,8 \pm 0,3) \times 10^5$	$(6,2 \pm 0,3) \times 10^4$
	<i>Klebsiella spp</i>	—	$(7,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^4$
	<i>Bacteroides spp</i>	—	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^{10}$	$(3,1 \pm 0,3) \times 10^9$	$(8,5 \pm 0,3) \times 10^8$
	<i>Fusobacterium spp</i>	—	$(2,9 \pm 0,3) \times 10^{10}$	$(1,8 \pm 0,3) \times 10^{10}$	$(0,5 \pm 0,02) \times 10^{10}$
ОГП + Ампициллин + ЛКК APP + Ampicillin + CBL	<i>Escherichia coli</i>	—	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^7$	$(3,1 \pm 0,3) \times 10^6$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^6$
	<i>Enterococcus spp</i>	—	$(4,9 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^4$
	<i>Staphylococcus spp</i>	—	$(6,4 \pm 0,3) \times 10^6$	$(3,8 \pm 0,2) \times 10^5$	$(4,4 \pm 0,3) \times 10^5$
	<i>Proteus spp</i>	—	$(5,8 \pm 0,3) \times 10^4$	$(4,4 \pm 0,3) \times 10^4$	$(4,0 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Klebsiella spp</i>	—	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^4$	$(1,0 \pm 0,2) \times 10^4$
	<i>Bacteroides spp</i>	—	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^{10}$	$(3,8 \pm 0,3) \times 10^9$	$(5,3 \pm 0,3) \times 10^8$
	<i>Fusobacterium spp</i>	—	$(4,3 \pm 0,3) \times 10^{10}$	$(1,5 \pm 0,2) \times 10^{10}$	$(4,9 \pm 0,3) \times 10^8$

Продолжение таблицы 1
Table 1. (Continued from previous page)

Группа животных Group of animals	Микроорганизмы Microorganisms	Количество бактерий, КОЕ/мл Number of bacteria, CFU/ml			
		1 сутки после операции 1 day after surgery	1 сутки после релапаротомии 1 day after relaparotomy	3 суток после релапаротомии 3 days after relaparotomy	5 суток после релапаротомии 5 days after relaparotomy
ОГП + ЛКК APP + CBL	<i>Escherichia coli</i>	—	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^7$	$(3,1 \pm 0,3) \times 10^6$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^6$
	<i>Enterococcus spp</i>	—	$(3,6 \pm 0,3) \times 10^9$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^6$	$(3,7 \pm 0,3) \times 10^7$
	<i>Staphylococcus spp</i>	—	$(5,2 \pm 0,2) \times 10^8$	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^7$	$(2,9 \pm 0,2) \times 10^7$
	<i>Proteus spp</i>	—	$(6,0 \pm 0,3) \times 10^4$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^4$	$(1,3 \pm 0,3) \times 10^4$
	<i>Klebsiella spp</i>	—	$(3,8 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,9 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^5$
	<i>Bacteroides spp</i>	—	$(3,9 \pm 0,3) \times 10^5$	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,0 \pm 0,3) \times 10^5$
	<i>Fusobacterium spp</i>	—	$(3,2 \pm 0,3) \times 10^{11}$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^{10}$	$(3,6 \pm 0,3) \times 10^9$

делены такие же виды бактерий, как и из тонкого кишечника. В наиболее высоких концентрациях были выделены *E. coli*, бактерии родов *Enterococcus* и *Staphylococcus* (табл. 2). У животных групп 2 и 3 видовой состав микрофлоры перитонеального экссудата в течение 5-и суток после релапаротомии не изменялся, однако концентрация бактерий достоверно снизилась. В группе 4 концентрация бактерий уже через сутки после релапаротомии достоверно снижалась. На 3-и сутки отсутствовали бактерии рода *Klebsiella*, а на 5-е – *Bacteroides*.

В группе 5 на 5-е сутки после релапаротомии видовой состав микрофлоры перитонеального экссудата не изменился, а концентрация бактерий достоверно снизилась.

Из венозной крови у крыс с ОГП были выделены микроорганизмы трех видов: *E. coli*, *S. aureus* и рода *Bacteroides*. У животных группы 2 концентрация бактерий в крови на 1-е сутки после операции составила 10^4 – 10^7 КОЕ/мл, на 3-е сутки повысилась до 10^5 – 10^9 КОЕ/мл, на 5-е сутки снизилась до 10^2 – 10^4 КОЕ/мл (табл. 3). В группе 3 через сутки после релапаротомии она составляла 10^4 – 10^8 КОЕ/мл, снижаясь на 3-и сутки до 10^2 – 10^7 , а на 5-е – до 10^2 – 10^3 КОЕ/мл.

В группе 4 через сутки после релапаротомии концентрация бактерий снизилась до 10^3 КОЕ/мл, на 3-и сутки концентрация *E. coli* и *S. aureus* – до 10^2 КОЕ/мл, а бактерии рода *Bacteroides* не выделялись. На 5-е сутки у крыс этой группы была установлена эрадикация венозной крови от всех бактерий.

В группе 5 концентрация бактерий на 3-е сутки после релапаротомии снижалась до 10^2 – 10^6 КОЕ/мл, а на 5-е сутки – до 10^2 – 10^3 КОЕ/мл.

In group 5 to the 5th day after relaparotomy the species composition of microflora of peritoneal exudate was not altered and concentration of bacteria statistically and significantly reduced.

In venous blood of rats with APP the microorganisms of three types were found: *E.coli*, *S. aureus* and *Bacteriodes*. In the animals of group 2 the concentration of bacteria in blood to the 1st day after surgery made 10^4 – 10^7 CFU/ml, to the 3rd day it increased up to 10^5 – 10^9 CFU/ml, to the 5th day it reduced down to 10^2 – 10^4 CFU/ml (Table 3). In group 3 in 24 hrs after relaparotomy it made 10^4 – 10^8 CFU/ml reducing to the 3rd day down to 10^2 – 10^7 and to 10^2 – 10^3 CFU/ml to the 5th day.

In group 4 in 24 hrs after relaparotomy the concentration of bacteria reduced down to 10^3 CFU/ml, to the 3rd day the concentration of *E.coli* and *S. aureus* decreased down to 10^2 CFU/ml and bacteria of *Bacteriodes* species were not isolated. To the 5th day in the rats of this group there was found an eradication of venous blood from all the bacteria.

In the group 5 the concentration of bacteria to the 3rd day after relaparotomy reduced down to 10^2 – 10^6 CFU/ml and to the 5th day – down to 10^2 – 10^3 CFU/ml.

The presented data about parietal microflora of small intestine, peritoneal exudate and venous blood of experimental animals testify to the fact that the used by us model of acute peritonitis allowed to reproduce a classic from the point of view of current concepts pyoseptic mixed infection. As the result of the surgery a small intestine microflora changed qualitatively and quantitatively. Its colonization in high titres with pathogenic and opportunistic bacteria of *Enterobacteriaceae* family, asporogenic anaerobic bacteria, gram-positive bacteria of *Staphylococcus*

Таблица 2. Микрофлора перитонеального экссудата крыс при различных методах терапии
Table 2. Microflora of peritoneal exudate of rats under different therapy methods

Группа животных Group of animals	Микроорганизмы Microorganisms	Количество бактерий, КОЕ/мл Number of bacteria, CFU/ml			
		1 сутки после операции 1 day after surgery	1 сутки после релапаротомии 1 day after relaparotomy	3 суток после релапаротомии 3 days after relaparotomy	5 суток после релапаротомии 5 days after relaparotomy
Интактная (контроль) Intact control	<i>Escherichia coli</i>	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^9$	$(4,7 \pm 0,3) \times 10^9$	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^9$	$(2,8 \pm 0,2) \times 10^7$
	<i>Enterococcus spp</i>	$(3,9 \pm 0,2) \times 10^6$	$(5,1 \pm 0,3) \times 10^6$	$(4,9 \pm 0,3) \times 10^6$	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^6$
	<i>Staphylococcus spp</i>	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^6$	$(3,3 \pm 0,3) \times 10^8$	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^8$	$(5,6 \pm 0,3) \times 10^6$
	<i>Proteus spp</i>	$(7,2 \pm 0,3) \times 10^2$	$(4,7 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,9 \pm 0,3) \times 10^4$	$(5,1 \pm 0,3) \times 10^4$
	<i>Klebsiella spp</i>	$(4,4 \pm 0,3) \times 10^2$	$(5,8 \pm 0,3) \times 10^2$	$(4,9 \pm 0,3) \times 10^2$	$(3,5 \pm 0,3) \times 10^2$
	<i>Bacteroides spp</i>	$(3,1 \pm 0,2) \times 10^5$	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(3,9 \pm 0,2) \times 10^4$	$(6,3 \pm 0,3) \times 10^4$
	<i>Fusobacterium spp</i>	$(7,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(5,3 \pm 0,3) \times 10^6$	$(4,3 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,9 \pm 0,3) \times 10^5$
ОГП APP	<i>Escherichia coli</i>	—	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^6$	$(7,1 \pm 0,3) \times 10^5$	$(3,3 \pm 0,3) \times 10^5$
	<i>Enterococcus spp</i>	—	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(5,4 \pm 0,3) \times 10^4$	$(3,9 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Staphylococcus spp</i>	—	$(5,6 \pm 0,3) \times 10^7$	$(4,7 \pm 0,3) \times 10^7$	$(1,9 \pm 0,2) \times 10^6$
	<i>Proteus spp</i>	—	$(5,5 \pm 0,3) \times 10^3$	$(4,8 \pm 0,3) \times 10^3$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Klebsiella spp</i>	—	$(3,2 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,4 \pm 0,3) \times 10^2$
	<i>Bacteroides spp</i>	—	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^3$	$(5,1 \pm 0,3) \times 10^3$	$(4,0 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Fusobacterium spp</i>	—	$(7,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(6,0 \pm 0,3) \times 10^4$	$(1,4 \pm 0,3) \times 10^4$
ОГП + Ампициллин APP + Ampicillin	<i>Escherichia coli</i>	—	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^6$	$(3,8 \pm 0,3) \times 10^5$	$(4,4 \pm 0,3) \times 10^5$
	<i>Enterococcus spp</i>	—	$(3,3 \pm 0,3) \times 10^5$	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(1,4 \pm 0,3) \times 10^4$
	<i>Staphylococcus spp</i>	—	$(4,5 \pm 0,3) \times 10^6$	$(3,1 \pm 0,3) \times 10^5$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^5$
	<i>Proteus spp</i>	—	$(3,3 \pm 0,3) \times 10^3$	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^3$	$(1,4 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Klebsiella spp</i>	—	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^2$	$(2,4 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,0 \pm 0,3) \times 10^2$
	<i>Bacteroides spp</i>	—	$(3,9 \pm 0,3) \times 10^3$	$(3,1 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,9 \pm 0,3) \times 10^2$
	<i>Fusobacterium spp</i>	—	$(2,6 \pm 0,3) \times 10^4$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^4$	$(2,2 \pm 0,3) \times 10^4$
ОГП + Ампициллин + ЛКК APP + Ampicillin + CBL	<i>Escherichia coli</i>	—	$(3,1 \pm 0,3) \times 10^4$	$(2,7 \pm 0,3) \times 10^3$	$(4,9 \pm 0,3) \times 10^2$
	<i>Enterococcus spp</i>	—	$(1,6 \pm 0,3) \times 10^3$	$(2,1 \pm 0,3) \times 10^3$	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^2$
	<i>Staphylococcus spp</i>	—	$(5,4 \pm 0,3) \times 10^4$	$(1,3 \pm 0,3) \times 10^4$	$(5,0 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Proteus spp</i>	—	$(7,1 \pm 0,3) \times 10^2$	$(5,4 \pm 0,3) \times 10^2$	$(2,2 \pm 0,2) \times 10^2$
	<i>Klebsiella spp</i>	—	$(3,1 \pm 0,3) \times 10^2$	0	0
	<i>Bacteroides spp</i>	—	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^3$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^2$	0
	<i>Fusobacterium spp</i>	—	$(3,8 \pm 0,3) \times 10^2$	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,0 \pm 0,3) \times 10^2$

Продолжение таблицы 2
Table 2. (Continued from previous page)

Группа животных Group of animals	Микроорганизмы Microorganisms	Количество бактерий, КОЕ/мл Number of bacteria, CFU/ml			
		1 сутки после операции 1 day after surgery	1 сутки после релапаротомии 1 day after relaparotomy	3 суток после релапаротомии 3 days after relaparotomy	5 суток после релапаротомии 5 days after relaparotomy
ОГП + ЛКК APP + CBL	<i>Escherichia coli</i>	–	$(4,5 \pm 0,3) \times 10^5$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^4$	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^4$
	<i>Enterococcus spp</i>	–	$(3,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^4$	$(6,1 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Staphylococcus spp</i>	–	$(4,7 \pm 0,3) \times 10^7$	$(8,3 \pm 0,3) \times 10^6$	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^6$
	<i>Proteus spp</i>	–	$(6,0 \pm 0,3) \times 10^3$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^5$	$(1,5 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Klebsiella spp</i>	–	$(2,9 \pm 0,3) \times 10^2$	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,8 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Bacteroides spp</i>	–	$(4,0 \pm 0,3) \times 10^3$	$(2,1 \pm 0,3) \times 10^3$	$(1,5 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Fusobacterium spp</i>	–	$(5,0 \pm 0,3) \times 10^4$	$(2,8 \pm 0,3) \times 10^4$	$(0,8 \pm 0,03) \times 10^4$

Таблица 3. Микробная обсемененность венозной крови крыс с ОГП при различных методах терапии
Table 3. Microbial contamination of venous blood of rats with APP under different therapy methods

Группа животных Group of animals	Микроорганизмы Microorganisms	Количество бактерий, КОЕ/мл Number of bacteria, CFU/ml			
		1 сутки после операции 1 day after surgery	1 сутки после релапаротомии 1 day after relaparotomy	3 суток после релапаротомии 3 days after relaparotomy	5 суток после релапаротомии 5 days after relaparotomy
Интактная (контроль) Intact control	<i>Escherichia coli</i>	$(2,1 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,5 \pm 0,2) \times 10^5$	$(2,7 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,9 \pm 0,2) \times 10^2$
	<i>Staphylococcus spp</i>	$(4,0 \pm 0,2) \times 10^5$	$(6,1 \pm 0,3) \times 10^6$	$(8,5 \pm 0,2) \times 10^7$	$(3,1 \pm 0,2) \times 10^4$
	<i>Bacteroides spp</i>	$(1,8 \pm 0,2) \times 10^7$	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^9$	$(1,5 \pm 0,2) \times 10^9$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^4$
ОГП APP	<i>Escherichia coli</i>	–	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^5$	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^4$	$(1,6 \pm 0,3) \times 10^2$
	<i>Staphylococcus spp</i>	–	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(1,9 \pm 0,3) \times 10^4$	$(4,8 \pm 0,2) \times 10^3$
	<i>Bacteroides spp</i>	–	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^8$	$(3,5 \pm 0,3) \times 10^7$	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^4$
ОГП + Ампициллин APP + Ampicillin	<i>Escherichia coli</i>	–	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(6,4 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,1 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Staphylococcus spp</i>	–	$(2,3 \pm 0,3) \times 10^4$	$(3,7 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,9 \pm 0,3) \times 10^2$
	<i>Bacteroides spp</i>	–	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^8$	$(2,9 \pm 0,3) \times 10^7$	$(4,5 \pm 0,3) \times 10^3$
ОГП + Ампициллин + ЛКК APP + Ampicillin + CBL	<i>Escherichia coli</i>	–	$(6,4 \pm 0,3) \times 10^3$	$(1,08 \pm 0,2) \times 10^2$	0
	<i>Staphylococcus spp</i>	–	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^3$	$(1,7 \pm 0,3) \times 10^2$	0
	<i>Bacteroides spp</i>	–	$(3,1 \pm 0,3) \times 10^3$	0	0
ОГП + ЛКК APP + CBL	<i>Escherichia coli</i>	–	$(6,3 \pm 0,3) \times 10^4$	$(3,1 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,3 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Staphylococcus spp</i>	–	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^4$	$(2,3 \pm 0,3) \times 10^2$	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^3$
	<i>Bacteroides spp</i>	–	$(3,5 \pm 0,3) \times 10^7$	$(5,9 \pm 0,3) \times 10^6$	$(1,8 \pm 0,3) \times 10^3$

Представленные данные о пристеночной микрофлоре тонкого кишечника, перитонеального экссудата и венозной крови экспериментальных животных свидетельствуют о том, что использованная нами модель острого перитонита позволила воспроизвести классическую, с точки зрения современных концепций, гнойно-септическую микстинфекцию. В результате проведенной операции произошло качественное и количественное изменение микрофлоры тонкого кишечника. Развилась его колонизация в высоких титрах патогенными и условно-патогенными бактериями семейства *Enterobacteriaceae*, аспорогенными анаэробными бактериями, грамположительными бактериями родов *Staphylococcus* и *Enterococcus*. Под действием совокупности факторов вирулентности (адгезинов, инвазинов, агрессивных, имидинов, модулинов и др.) были нарушены защитные барьеры с последующим инфицированием брюшной полости и крови [2]. Об этом свидетельствует качественный состав микрофлоры перитонеального экссудата и венозной крови. При использованных методах терапии выраженный антимикробный эффект наблюдали при релапаротомии с введением ампициллина в сочетании с ЛКК. Данная терапия обеспечивала наиболее выраженное снижение колонизации тонкого кишечника и инфицирования брюшной полости патогенными и условно-патогенными бактериями, а также эрадикацию венозной крови от микроорганизмов. Терапевтический эффект релапаротомии с санацией брюшной полости одним из препаратов (раствор фурацилина, ампициллин или ЛКК) был менее выражен и одинаков во всех 3-х группах. Учитывая, что ЛКК не обладает прямым бактерицидным или бактериостатическим действием, можно сделать вывод о его иммуномодулирующем эффекте. Известно, что при сепсисе формируется иммунологический дистресс [1, 3], для коррекции которого необходимо нейтрализовать возбудителя и его токсины, изменить активность макрофагов, гранулоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов [6, 11], восстановить баланс синтеза и экскреции про- и противовоспалительных цитокинов [3], предупредить развитие полиорганной недостаточности [2, 4]. Наиболее вероятно, что препарат криоконсервированного ЛКК участвует в коррекции иммунологического дистресса [1, 6], что в комбинации с противомикробным действием ампициллина дает выраженный терапевтический эффект.

При макроскопическом исследовании париетальной брюшины у всех животных с ОГП на 1-е сутки после релапаротомии морфологическая картина отражала реакцию организма на начальном этапе развития воспалительного процесса. Париетальная брюшина была тусклая, набухшая, полнокровная с обилием инъецированных, четко контурируемых кровеносных сосудов, умеренным

and *Euterooccus* developed. The combination of virulence factors (adhesins, invasins, aggressins, imidins, modulins etc.) disordered the protective barriers, and resulted in following infection of abdominal cavity and blood [2]. This is confirmed with qualitative composition of microflora of peritoneal exudates and venous blood. When using these therapeutic methods the manifested antimicrobial effect was observed during relaparotomy and with the injection of ampicillin in a combination with CBL. This therapy provided the most manifested reduction of small intestine colonization and infection of abdominal cavity with pathogenic and opportunistic bacteria, as well as eradication of venous blood from microorganisms. Therapeutic effect from relaparotomy when sanitating an abdominal cavity with one of the preparation (Furacinum, Ampicillin or CBL) was less manifested and similar in all three groups. Taking into account that CBL does not possess a direct bactericide and bacteriostatic effect, its immune modulating influence may be supposed. It is known that during sepsis an immunologic distress is formed [1, 3], for the correction of which it is necessary to neutralize the causative agent and its toxins, to correct the activity of macrophages, granulocytes, lymphocytes, platelets [6, 11], to recover the balance of synthesis and excretion of pro- and anti-inflammatory cytokines [3], to prevent the development of polyorgan insufficiency [2, 4]. It is more likely that preparation of cryopreserved CBL participates in the correction of immunological distress [1, 6], that in the combination with antimicrobial effect of Ampicillin provides a manifested therapeutic effect.

Macroscopic study of parietal of peritoneum in all the animals with APP revealed to the first day after relaparotomy the morphological picture of an organism response at an initial stage of development of inflammatory process. Parietal peritoneum was dim, swollen, plethorical with an abundance of injected, distinctly circumscribed blood vessels, moderate number of fibrinous depositions on its surface. Intestinal loops are moderately infiltrated, covered with fibrin touch, liquid is found in the lumen.

There was microscopically observed the peritoneum oedema with loosening and separation of elastic and collagen fibers. There was sharply expressed the vessel lumen ectasia of microhemocirculatory channel (MHCC). In peritoneum there was revealed a small number of neutrophil polymorphonuclear leukocytes (NPNL) (0.2200 ± 0.0240), single macrophages and lymphocytes. To the 3rd day the morphological picture of parietal peritoneum was characterized with leukocyte-macrophage reaction, progressing of discirculatory disorders in MHCC, stipulated by focus disorganization of collagen fibers of capillaries and venules basal membranes, contributing to the strengthening of permeability of MHCC vessels

количеством фибриновых наложений на ее поверхности. Петли кишок умеренно инфильтрированы, покрыты налетом фибрина, в просвете обнаруживалась жидкость.

Микроскопически наблюдали отек брюшины с разрыхлением и разволокнением эластических и коллагеновых волокон. Резко выражена эктазия просвета сосудов микрогемодиализаторного русла (МГЦР). В брюшине выявляли небольшое количество нейтрофильных полиморфноядерных лейкоцитов (НПЯЛ) ($0,2200 \pm 0,0240$), единичные макрофаги и лимфоциты. На 3-и сутки морфологическая картина париетальной брюшины характеризовалась лейкоцитарно-макрофагальной реакцией, прогрессированием дисциркуляторных расстройств в МГЦР, обусловленных очаговой дезорганизацией коллагеновых волокон базальных мембран капилляров и венул, что способствовало усилению проницаемости сосудов МГЦР и лейкодиapedезу. На 5-е сутки у животных наблюдали гнойно-фибринозное воспаление париетальной брюшины с выраженным некротическим компонентом, резкое угнетение барьерной функции тонкой кишки. Микроскопически брюшина практически лишена мезотелиальной выстилки. Во всех ее слоях выявляли инфильтраты НПЯЛ ($0,3803 \pm 0,0320$), очаги некроза ($0,0172 \pm 0,004 \text{ мм}^2$). В большинстве сосудов отмечали деструктивные изменения всей толщины стенки в виде альтеративного тромбофлебита и тромбоартериолита.

У крыс группы 3 релапаротомия с введением ампициллина незначительно снижала воспаление (с 1-х по 3-и сутки). Однако у них отмечали повреждение барьерной функции тонкой кишки и транслокацию симбионтной микрофлоры из просвета кишечника в полость брюшины.

Микроскопически в брюшине были выявлены инфильтраты, состоящие из НПЯЛ ($0,3230 \pm 0,0334$), макроцитов, лимфоцитов и единичных макрофагов, очаги некроза ($0,0160 \pm 0,0038 \text{ мм}^2$). На 5-е сутки у животных этой группы отмечали нарастание дистрофических и некротических процессов в париетальной брюшине с инфильтратами, состоящими из НПЯЛ ($0,3780 \pm 0,0330$), макрофагов. Лимфоциты обнаружены не были.

Совместное введение с антибиотиком препарата ЛКК обеспечивало уменьшение воспалительного процесса в брюшине и колонизации тонкого кишечника. Уже на 3-и сутки у крыс этой группы дистрофические и некротические процессы в брюшине были менее выражены. Микроскопически точечные инфильтраты состояли из единичных НПЯЛ и макрофагов. Очаги некроза обнаруживались не у всех животных, площадь очагов уменьшалась и составляла в среднем $0,0023 \pm 0,0002 \text{ мм}^2$. На 5-е сутки у всех крыс группы 4 наблюдали

and leukodiapedesis. To the 5th day in the animals there were observed pyo-fibrinous inflammation of parietal peritoneum with manifested necrotic component, sharp suppression of barrier function of small intestine. Microscopically the peritoneum was nearly deprived of mesothelial embedding. In all its layers there were found NPNL infiltrates (0.3803 ± 0.00320), necrosis foci ($0.0172 \pm 0.004 \text{ mm}^2$). In the majority of vessels there were noted destructive changes of the whole width of the wall of an alternative thrombophlebitis or thromboarteriitis types.

In the rats of group 3 the relaparotomy with Ampicillin injection slightly decreased an inflammation (from the first to the third days). However, there were noticed the impairment of barrier function of small intestine and translocation of symbiotic microflora from bowel lumen into peritoneum cavity.

Microscopically in peritoneum there were revealed infiltrates, consisting of NPNL (0.3230 ± 0.0334), macrocytes, lymphocytes and single macrophages, necrosis foci ($0.0160 \pm 0.038 \text{ mm}^2$). To the 5th day in the animals of this group there was found an enhancement of dystrophic and necrotic processes in parietal peritoneum with infiltrates, consisting of NPNL (0.3780 ± 0.0330), macrophages. No lymphocytes were found.

A combined injection of CBL with antibiotic provided the lessening of inflammatory process in peritoneum and colonization of small intestine. Even to the 3rd day in rats of this group dystrophic and necrotic processes in peritoneum were less profound. Microscopically the point infiltrates consisted of single NPNL and macrophages. Necrosis foci were found not in all animals, the area of foci decreased and made in average $0.0023 \pm 0.0002 \text{ mm}^2$. To the 5th day in all the rats of group 4 there was observed the reduction of oedema of parietal peritoneum with no fibrinous depositions on its surface with a distinct contour of blood vessels. Intestinal loops were not infiltrated.

Therapeutic effect of the application of cryopreserved CBL preparation was less manifested in the rats of group 5. Reduced inflammatory process in peritoneum and colonization of small intestine were noted to the 5th day. Microscopic study has shown that to the 3rd day in the rats of this group dystrophic and necrotic processes in peritoneum were less manifested if compared with the group 3, but were more profound comparing to group 4. Infiltrates, revealed in parietal peritoneum of animals to the 3rd day consisted of NPNL (0.1560 ± 0.230), lymphocytes and single macrophages, and necrosis foci were found ($0.0326 \pm 0.0032 \text{ mm}^2$). To the 5th day in animals of this group a reduced inflammation of peritoneum was observed, although infiltrates and necrosis foci were found both in peritoneum and intestinal loops.

уменьшение отечности париетальной брюшины без фибринозных наложений на ее поверхности с четким контуром кровеносных сосудов. Петли кишок не были инфильтрированы.

Терапевтический эффект от применения только препарата криоконсервированного ЛКК был менее выраженным (группа 5). Уменьшение воспалительного процесса в брюшине и колонизации тонкого кишечника отмечали на 5-е сутки. Микроскопическое исследование показало, что на 3-и сутки у крыс этой группы дистрофические и некротические процессы в брюшине были менее выраженными по сравнению с группой 3, но более выраженными, чем у крыс группы 4. Инфильтраты, выявленные в париетальной брюшине животных на 3-и сутки, состояли из НПЯЛ ($0,1560 \pm 0,0230$), лимфоцитов и единичных макрофагов, наблюдались очаги некроза ($0,0326 \pm 0,0032$ мм²). На 5-е сутки у животных этой группы наблюдали уменьшение воспаления брюшины, хотя инфильтраты и очаги некроза обнаруживались как в брюшине, так и в петлях кишок.

Выводы

Использованная экспериментальная модель остро разлитого перитонита воспроизводит гнойно-септическую микст-инфекцию с качественным и количественным изменением микрофлоры тонкого кишечника, инфицированием этой микрофлорой брюшной полости и крови. Релапаротомия с введением ампициллина и препарата криоконсервированного лейкоконцентрата кордовой крови обеспечивает эрадикацию микроорганизмов из крови и наиболее выраженное снижение колонизации тонкого кишечника и инфицированности брюшной полости патогенными и условно-патогенными бактериями, уменьшение дистрофических и некротических процессов в брюшной полости по сравнению с монотерапией раствором фурацилина, ампициллином или препаратом ЛКК.

Литература

1. Бойко В.В., Грищенко В.И., Цуцаева А.А., Криворучко И.А. Применение кордовой крови у больных с желудочными кровотечениями язвенного генеза // Вісник проблем біології і медицини.– 1999.– Вип. 3.– С. 14–18.
2. Бондарев В.И., Бондарев Р.В. К вопросу о видеолaparоскопической санации брюшной полости у больных с острым разлитым перитонитом // Укр. мед. альманах.– 2003.– №6.– С. 20–22.
3. Бунатян А.А., Ивняева Е.В., Нигода В.В., Винницкий Л.И. Иммунокорректоры в комплексном лечении послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений у хирургических больных и мониторинг иммунологических показателей // Анестезиология и реаниматология.– 2004.– №5.– С. 79–83.
4. Гельдфанд Б.Р., Руднев В.А., Проценко Д.Н. и др. Сепсис: диагностическая концепция, патогенез и интенсивная терапия // Сепсис в начале XXI века: классификация,

Conclusions

Used experimental model of acute generalized peritonitis reproduces pyo-septic mixed infection with qualitative and quantitative change of small intestine microflora, infection with this microflora of peritoneum and blood. Relaparotomy with injection of ampicillin and preparation of cryopreserved cord blood leucoconcentrate provides eradication of microorganisms from blood and the most manifested decrease of small intestine colonization and infection of peritoneal cavity with pathogenic and opportunistic bacteria, reduced dystrophic and necrotic processes in peritoneal cavity if compared with monotherapy by Furacinum solution, Ampicillin or CBL preparation.

References

1. Boyko V.V., Grishenko V.I., Tsutsaeva A.A., Krivoruchko I.A. Application of cord blood in patients with gastric bleedings of ulcer genesis// Visnyk Problem Biologii i Meditsyny.– 1999.– Issue 3.– P. 14–18.
2. Bondarev V.I., Bondarev R.V. To the question of videolaparoscopic sanation of abdominal cavity of patients with acute generalized peritonitis// Ukr. Med. Almanakh.– 2003.– N6.– P. 20–22.
3. Butanyan A.A., Ivnyaeva E.V., Nigoda V.V., Vinnitsky L.I. Immune correctors in complex treatment of post-surgery pyoinflammatory complications in surgical patients and monitoring of immunological indices// Anestziologiya i Reanimatologiya.– 2004.– N5.– P. 79–83.
4. Geldfand B.R., Rudnev V.A., Protsenko D.N. et al. Sepsis: diagnostic conception, pathogenesis and intensive therapy// Sepsis in the beginning of 21st century: classification, clinical-diagnosical conception and treatment.– Moscow-Saint-Petersburg, 2004.– P. 3–35.
5. Purulent peritonitis. Pathophysiology and treatment/ Ed. by A.Ya. Tsyganenko.– Kharkov: Kontrast, 2002.– 280 p.
6. Goltsev A.N., Kalinichenko T.A. Human umbilical cord blood as the source of hemopoietic cells for clinical application. Characteristics of hemopoietic potential// Problems of Cryobiology.– 1998.– N1.– P. 3–24.
7. Dachenko V.F., Biryukova S.V., Starobinets Z.T. et al. Laboratory diagnostics of pyo-inflammatory diseases, stipulated by asporogenic anaerobic microorganisms: Methodical recommendations.– Kharkiv, 2000.– 35 p.
8. General ethical principles of experiments in animals // Endokrinologiya.– 2003.– Vol. 8, N1.– P. 142–145.
9. Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zakhariya E.A., Zapadnyuk B.V. Laboratory animals. Breeding, keeping, use in experiment. Kyiv: Vysscha Shkola, 1983.– 383p.
10. Malyi V.P. Sepsis in clinician's practice.– Kharkov: Prapor, 2008.– 584 p.
11. Medical microbiology. Part one / Ed. By A.M. Korolyuk, V.B. Sboychakov.– St.-Petersburg: Meditsyna, 2002.– 267 p.
12. Medical microbiology, virusology and immunology: Manual / Ed. by A.A. Vorobyev.– Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2004.– 691 p.
13. Melnik V.M., Pojda O.I. Substantiation and results of pathogenetic treatment of experimental purulent generalized peritonitis // Ukr. Zhurnal Ekstremalnoi Medytsyny. im. G.O. Mozhayeva.– 2005.– Vol. 6, N4.– P. 56–60.
14. Merkulov G.A. Course of pathological technique.– Moscow: Meditsina, 1969.– 423p.
15. Order of the Ministry of Health Care of Ukraine N167 dated of 05.04.2007 "About approval of methodical recommen-

- клинико-диагностическая концепция и лечение.– М.–СПб, 2004.– С. 3–35.
5. *Гнойный перитонит. Патофизиология и лечение* /Под ред. А.Я. Цыганенко.– Харьков: Контраст, 2002.– 280 с.
 6. *Гольцев А.Н., Калиниченко Т.А.* Пуповинная кордовая кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Характеристики гемопоэтического потенциала // Проблемы криобиологии.– 1998.– №1.– С. 3–24.
 7. *Даченко В.Ф., Бірюкова С.В., Старобінець З.Т. та ін.* Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними анаеробними мікроорганізмами: Метод. рекомендації.– Харків, 2000.– 35 с.
 8. *Загальноетичні принципи експериментів на тваринах* // Ендокринологія.– 2003.– Т. 8, №1.– С. 142–145.
 9. *Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В.* Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте.– Київ: Вища школа, 1983.– 383 с.
 10. *Малый В.П.* Сепсис в практике клинициста.– Харьков: Прапор, 2008.– 584 с.
 11. *Медицинская микробиология.* Часть первая / Под ред. А.М. Королюка, В.Б. Сбойчакова.– СПб: Медицина, 2002.– 267 с.
 12. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология:* Учебник / Под ред. А.А. Воробьева.– М.: Медицинское информационное агентство, 2004.– 691 с.
 13. *Мельник В.М., Пойда О.І.* Обґрунтування і результати патогенетичного лікування експериментального гострого гнійного поширеного перитоніту // Укр. журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаяєва.– 2005.– Т. 6, №4.– С. 56–60.
 14. *Меркулов Г.А.* Курс патологической техники.– М.: Медицина, 1969.– 423 с.
 15. *Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007 р.* "Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів".
 16. *Приказ МЗ СССР №535 от 22.04.85 г.* "Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений".
 17. *Симонян К.С.* Перитонит.– М.: Медицина, 1971.– 296 с.
 18. *Усиков Ф.Ф., Пастернак Е.В., Романова Л.Д. и др.* Хирургическая модель острого гнойного перитонита // Хирургия.– 1984.– №8.– С. 27–29.
 19. *Чернов В.Н., Белик Б.М.* Классификация и принципы лечения острого гнойного перитонита // Хирургия.– 2000.– №4.– С. 52–56.
 20. *Ярешко Н.А.* Антибиотикотерапия разлитого гнойного перитонита: методологические аспекты преподавания на кафедре общей хирургии // З'їзд хірургів України. Тези доп.– Тернопіль, 2002.– С. 337–339.
 21. *Пат. № 31847А Україна, МПК А01№1/02.* Спосіб криоконсервування кровотворних клітин кордової крові / А.О. Цуцаєва, В.І. Грищенко, О.С. Прокопюк та ін.; Заявлено 05.11.98; Опубл. 15.12.2000.– Бюл. №7.– С. 1.10.
 22. *Burger S.R.* Umbilical cord blood stem cells // Handbook of transfusion medicine.– London: Academic Press, 2001.– P. 171–178.
 23. *Kurtzberg J.* Progress with unrelated cord blood transplants in adults // Blood.– 2003.– Vol. 101.– P. 4648–4659.
 24. *Zapata-Sirvent R.L., Hansbrough J.F.* Bacterial translocation. A role in an etiology of a sepsis and multiorgane insufficiency // GEN.– 1992.– Vol. 46, N2.– P. 137–151.
 25. *Rennekampff O.H., Tenenhaus M., Hansbrough J. et al.* Effects of recombinant bactericidal, permeability-increasing protein on bacterial translocation and pulmonary neutrophil sequestration in burned mice // J. Burn Care Rehabil.– 1997.– Vol. 18, N1 (Pt. 1).– P. 17–21.
 16. *Order of the Ministry of Health Care of USSR N535 dated of 22.04.1985* "About unification of microbiological research methods, applied in clinical and diagnostic laboratories of therapeutic and prophylactic institutions".
 17. *Simonyan K.S. Peritonitis.* - Moscow: Meditsina, 1971. - 296p.
 18. *Usikov F.F., Pasternak E.B., Romanova L.D. et al.* Surgical model of acute purulent peritonitis// Khirurgiya.– 1984.– N8.– P. 27–29.
 19. *Chernov V.N., Belik B.M.* Classification and principles of treatment of acute purulent peritonitis // Khirurgiya.– 2000.– N4.– P. 52–56.
 20. *Yareshko N.A.* Antibiotic therapy of generalized purulent peritonitis: methodological aspects of teaching at the chair of general surgery// Congress of Surgeons of Ukraine. Proceedings Reports.– Ternopil, 2002.– P. 337–339.
 21. *Patent N31847A Ukraine IPC A01N1/02.* Method of cryopreservation of cord blood hemopoietic cells / A.O. Tsutsayeva, V.I. Grischenko, O.S. Prokopyuk et al.; Applied 05.11.98; Publ. 15.12.2000.– Bul. N7.– P. 1.10.
 22. *Burger S.R.* Umbilical cord blood stem cells // Handbook of transfusion medicine.– London: Academic Press, 2001.– P. 171–178.
 23. *Kurtzberg J.* Progress with unrelated cord blood transplants in adults // Blood.– 2003.– Vol. 101.– P. 4648–4659.
 24. *Zapata-Sirvent R.L., Hansbrough J.F.* Bacterial translocation. A role in an etiology of a sepsis and multiorgane insufficiency // GEN.– 1992.– Vol. 46, N2.– P. 137–151.
 25. *Rennekampff O.H., Tenenhaus M., Hansbrough J. et al.* Effects of recombinant bactericidal, permeability-increasing protein on bacterial translocation and pulmonary neutrophil sequestration in burned mice // J. Burn Care Rehabil.– 1997.– Vol. 18, N1 (Pt. 1).– P. 17–21.

Accepted 01.03.2011

Поступила 01.03.2011