

УДК: 616.34: 616.9 – 08: 616. – 053.2/.5.

Г.М. КОВАЛЬ, Н.В. БОЙКО

Ужгородський національний університет, медичний факультет, кафедра мікробіології, вірусології, імунології з курсом інфекційних хвороб, Ужгород

ВИВЧЕННЯ ПАТОГЕНЕЗУ РІЗНИХ ФОРМ КЛЕБСІЄЛЬОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЯХ ТА ПРОТИКЛЕБСІЄЛЬОЗНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ШТАМУ 1119 *BACILLUS SUBTILIS*

Проведено гістологічні дослідження патогенезу легеневої, кишкової та гостросептичної форм експериментальної клебсієльозної інфекції, відтворених шляхом застосування різних схем введення *Klebsiella rhinoscleromatis* та *Klebsiella pneumoniae*. Одержана патоморфологічна характеристика легеневої “склероми” та кишкової “пневмонії” як найбільш типових експериментальних моделей клебсієльозів, а також наведено результати тестування ефективності профілактичного та терапевтичного застосування штаму 1119 *Bacillus subtilis* для таких інфекцій.

Ключові слова: експериментальна клебсієльозна інфекція, *K. rhinoscleromatis* і *K. pneumoniae*, *B. subtilis* 1119, патогенез

Вступ. Хронічні клебсієльози [6] є ендемічними захворюваннями верхніх дихальних шляхів західних областей України, в тому числі і Закарпаття [2]. Екологічне підґрунтя інфекційної етіології клебсієльозів до цих пір не привертає належної уваги науковців та клініцистів, залишаючись все ще слабо вивченим. Невідповідність між різноманітними клінічними проявами клебсієльозів, з одного боку, і чітко означеним, навіть лімітованим, спектром виявлених у них факторів патогенності [7, 9] з іншого диктує необхідність дослідження механізмів, що лежать в основі патогенезу клебсієльозної інфекції [8, 10]. Слід також підкреслити, що загальновідома резистентність клебсієл до антибіотиків [5, 9] робить вкрай актуальним пошук нових альтернативних, у тому числі і бактеріальних [3, 4], препаратів протиклебсієльозної дії.

Мета роботи. Дослідити гістологічні зміни паренхіматозних органів і кісткового мозку відтворених нами нових експериментальних моделей клебсієльозної інфекції: легеневої “склероми” та кишкової “пневмонії” як з метою встановлення механізмів їх перебігу, так і для підтвердження принципової можливості використання відібраного нами раніше штаму бацил [4] як ефективного засобу попередження і лікування зазначених нозологічних форм захворювань.

Матеріали та методи. Кишкову, легеневу і гостросептичну форми експериментальної склероми і пневмонії відтворювали на нелінійних білих мишах шляхом перорального, інтраназального (під легким ефірним наркозом) і внутрішньо-очеревинного введення *K. Rhinoscleromatis* штаму 230 та *K. pneumoniae* штаму 3785 в дозах 500, 250, 125, 100, 50 і 30 млн. мікр. кл. на мишу [1]. Контролем служили інтактні тварини. Патоморфологічні дослідження внутрішніх

органів лабораторних тварин проводили за допомогою методів світлової та електронної мікроскопії [11]. Матеріали для електронної мікроскопії фіксували 1.6 % розчином глютаральдегіду в 0,1М фосфатному буфері (рН 7,3-7,4) і 2 % розчином OsO₄ в тому ж буфері. Після цього здійснювали проведення взірців через спирти зростаючої концентрації та абсолютний ацетон. Підготовлений таким чином матеріал заключали в епон. Зрізи виготовляли на ультрамикротомі LKB III (Швеція) і контрастували в ураніл-ацетаті і цитраті свинцю. Миші було виведено із експерименту шляхом CO₂ асфіксії у відповідності до “Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин”. Патоморфологічні зміни внутрішніх органів лабораторних тварин досліджували в динаміці: на 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 і 12 день експерименту. *B. subtilis* 1119 використовували інтраназально, перорально і парентерально (внутрішньоочеревинно) як профілактичний – за 24 години до інокуляції мишей інфектом і як терапевтичний засіб – через 24 години після зараження тварин, титр бацил дорівнював 500 млн. мікр. кл. /мл / мишу.

Результати досліджень та їх обговорення. На 2 добу після інтраназального введення білим мишам *K. rhinoscleromatis* у червоному кістковому мозку виявляли бактеріальні клітини: як поодинокі, так і у вигляді скупчень. Найчастіше бактерії знаходили біля моноцитів та лімфоцитів, а також у їх цитоплазмі та ядрі (рис. 1).

Слід зазначити, що клебсієли склероми були виявлені також і в інших ділянках органу, зокрема розташовані внутрішньо-судинно, периваскулярно та між клітинами гемопоетичного ряду. Під впливом бактеріальної інвазії та при взаємодії з імунокомпетентними клітинами відбувалася активація макрофагів, спостерігали руйнування клітин паренхіми кісткового мозку, і, відповідно,

збільшення кількості апоптозних тілець. Слід відзначити стаз судин і сладж еритроцитів. Електронно-мікроскопічне дослідження показало, що в червоному кістковому мозку мишей, яким вводили *K. rhinoscleromatis* парентерально, на 4-у добу бактеріальні клітини не виявлялись. Паренхіма органу була представлена гемопоетичними клітинами у різних фазах їх формування: від стовбурової до зрілої. Тут же видно розмежовані просторово мегакаріоцити з

невеликою кількістю відростків, які мають невеликий об'єм ущільненої цитоплазми та незначну кількість гранул. Можна припустити, що кровоносні капіляри синусоїдного типу сприяли вільному переміщенню зрілих клітин через пори у ендотелій. При пероральному введенні *K. pneumoniae* через 2-і доби у кістковому мозку спостерігались поодинокі бактеріальні клітини як і у судинному руслі, так і між клітинами паренхіми (рис. 2).

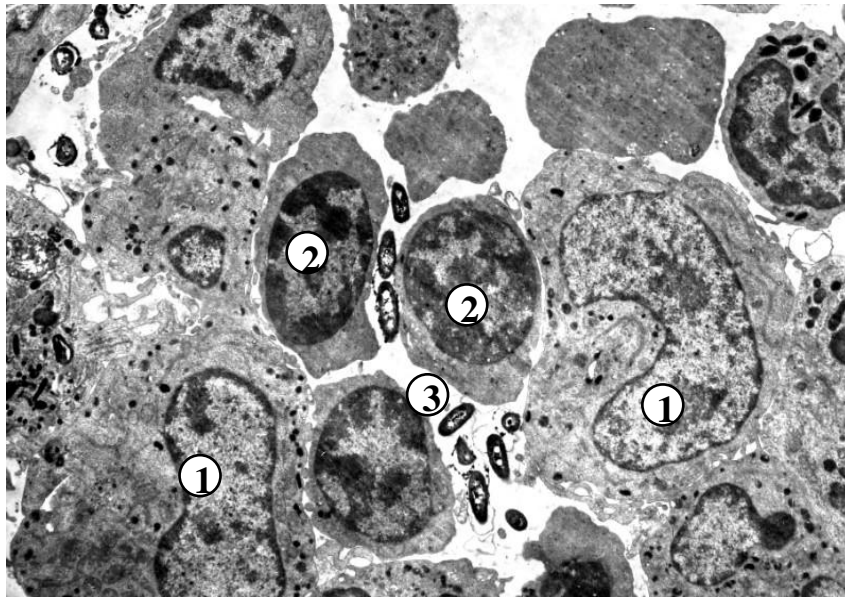


Рис. 1. Фрагменти червоного кісткового мозку мишей, яким вводили інтраназально *K. rhinoscleromatis*:
1 – моноцити, 2 – лімфоцити, 3 – бактеріальні клітини.

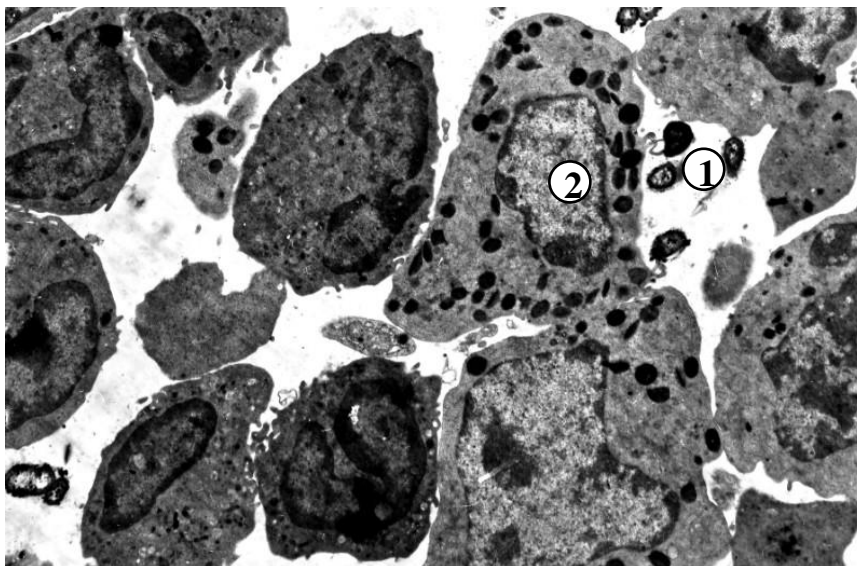


Рис. 2. Фрагменти червоного кісткового мозку мишей, яким вводили *K. pneumoniae* перорально:
1 – бактеріальні клітини, 2 – лейкоцити.

При парентеральному введенні *K. pneumoniae* через три доби бактеріальні клітини реєстрували як серед клітинних елементів червоного кісткового мозку, так і периваскулярно і внутрішньо-судинно.

Слід відзначити, що у червоному кістковому мозку і в нормі частина клітин гине у процесі їх диференціювання, однак при даному способі введення *K. pneumoniae* на 3-ю добу

спостерігалось значне підвищення кількості апоптозних клітин супроти контролю. Інтраназальне введення *K. pneumoniae* через 4 доби показало, що у червоному кістковому мозку бактеріальні клітини зустрічалися в більшій мірі біля моноцитів та ретикулондотеліальних клітин, а також внутрішньо-клітинно. *K. pneumoniae* виявлено як між

клітинами червоного кісткового мозку, так у просвіті судин.

Парентеральне (внутрішньоочеревинне) використання *B. subtilis* в якості профілактики експериментальної гостросептичної клебсієльозної інфекції призводило до лізису і наступної елімінації збудника із усіх місць його локалізації у червоному кістковому мозку (рис. 3).

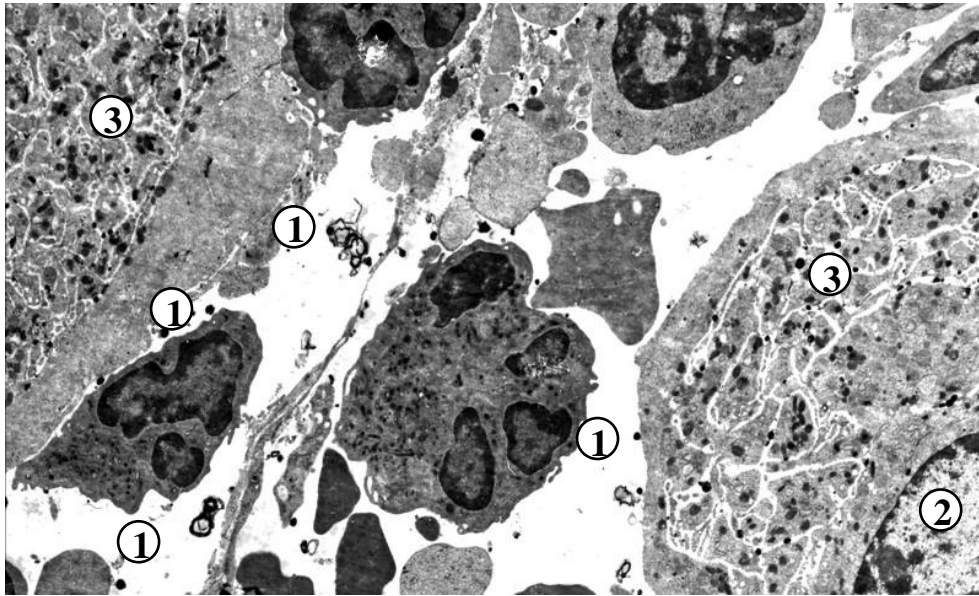


Рис. 3. Фрагменти червоного кісткового мозку мишей, яким вводили парентерально *B. subtilis* 1119 для профілактики від гостро септичної інвазії *K. pneumoniae*:

1 – залишки розщеплених бактеріальних клітин, 2 – мегакаріоцити 3 – відростки мегакаріоцитів.

У просвіті синусоїду виявляли також залишки мембран, найімовірніше бактеріальних. Такі залишки були розміщені і периваскулярно: серед клітин паренхіми кісткового мозку та біля мегакаріоцитів.

При інтраназальному введенні *B. subtilis* штаму 1119 для попередження інфекції, зумовленої *K. pneumoniae* уже на 2-у добу у клітинах червоного кісткового мозку суттєвих змін не знайдено. Пероральне введення *B. subtilis* в якості лікувального засобу при аналогічному способі інфікування *K. pneumoniae* також призводило до виведення бактеріальних клітин у червоному кістковому мозку теж на 2-у добу спостереження. При цьому відмічали нормальну (відновлену у порівнянні з контролем) структурну організацію клітин паренхіми червоного кісткового мозку (рис. 4).

Слід зауважити, що при лікуванні цієї форми інфекції шляхом застосування відібраного нами штаму бацил тут з'являються активні плазмоцити, які продукують антитіла. Про їх активність свідчить добре розвинена гранульована ендоплазматична сітка (ЕПС) з локальним розширенням цистерн виповнених γ -глобуліном.

При інтраназальному введенні *B. subtilis* і потім *K. rhinoscleromatis* в структурах паренхіми червоного кісткового мозку не було виявлено бактеріальних клітин та морфологічних змін клітин паренхіми. Всі клітини кісткового мозку зберігали типову структурну організацію і знаходились на різних стадіях диференціації та розвитку (рис. 5).

Застосування в якості лікувального засобу *B. subtilis* перорально при такому ж способі інфікування мишей штамом 230 *K. rhinoscleromatis* призвело до виведення бактерій у червоному кістковому мозку. Структура кісткового мозку в цьому випадку є ідентичною до вище описаної – інтраназальне введення спочатку *B. subtilis*, потім *K. rhinoscleromatis* (профілактичне використання бацил).

Введення *B. subtilis* (перорально) для терапії гостросептичної склеромної інфекції (парентеральне застосування *K. rhinoscleromatis*) призводило до активації і реструктуризації клітинного складу паренхіми червоного кісткового мозку, а саме: поділу клітин, який виявляли тут значно частіше, ніж при інших експериментальних моделях і схемах використання бацил.

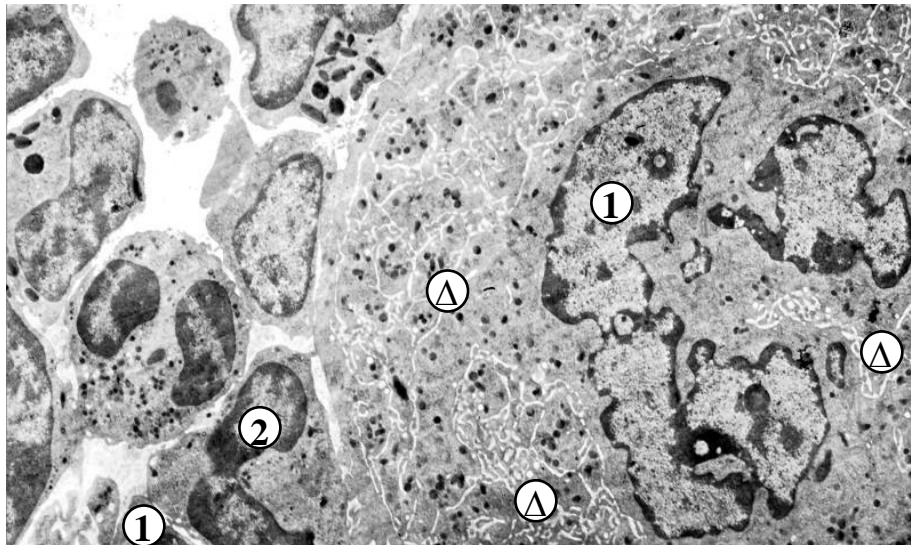


Рис. 4. Фрагменти червоного кісткового мозку мишей, яким спочатку перорально вводили *K. pneumoniae*, а через 24 год. *B. subtilis* як лікувальний засіб:

1 – мегакаріоцит з великою кількістю відростків (Δ); 2 – лейкоцити.

Слід відзначити, що при гостросептичній моделі склеромної інфекції нами не було виявлено помітних змін в структурній організації паренхіми печінки. Не спостерігали і присутності бактеріальних клітин (ні у паренхімі, ні у кровоносному руслі). Гепатоцити були щільно з'єднані, у цитоплазмі добре розвинуті органели синтезу (ендоплазматична сітка – ЕПС, комплекс Гольджі – КГ, мітохондрії – М) із великою кількістю ліпідних включень. Цистерни ЕПС оточували мітохондрії, утворюючи навколо них кільцеві структури. Більшість гепатоцитів були поліплоїдними і містили одне або два ядра. Між ендотеліоцитами та клітинами печінки (гепатоцитами) чітко вирізнявся простір Діссе,

який був заповнений мікроворсинками гепатоцитів. Між ендотеліоцитами виявлено велику кількість активних клітин Купфера, які мали неправильну форму та багаточисленні відростки. В печінці тварин, які одержували парентерально *B. subtilis* із профілактичною метою були відсутні бактерії, однак в гепатоцитах виявлено поодинокі або розеткоподібні скупчення включень глікогену. Простір Діссе відмежовано несучільним шаром ендотеліоцитів і клітин Купфера, в якому виявлено відростки гепатоцитів, а також перисинусоїдні ліпоцити (клітини Іто). Пероральне введення *B. subtilis* для терапії експериментальної склерози призвело до повної елімінації даного збудника.

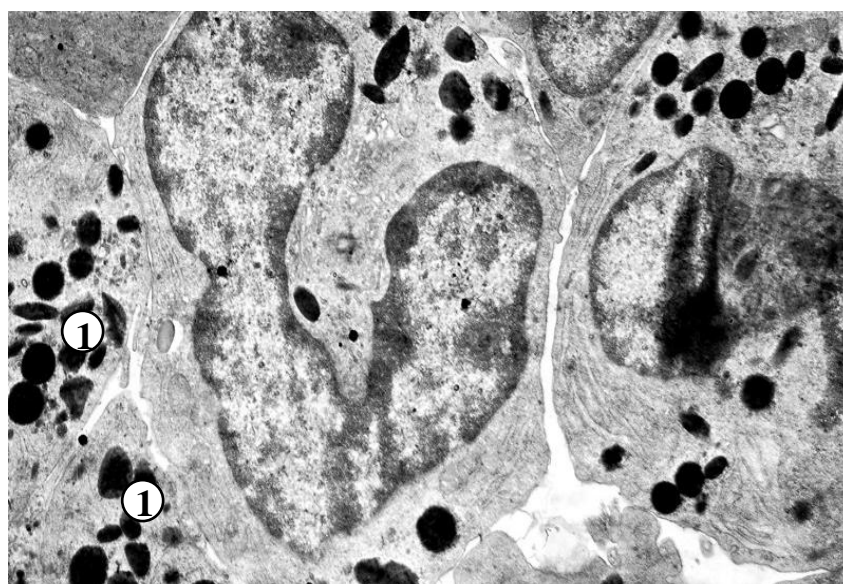


Рис. 5. Фрагменти червоного кісткового мозку мишей, яким інтраназально вводили *B. subtilis* для терапії експериментальної легеневої інфекції, зумовленої *K. rhinoscleromatis*: 1 – лейкоцити паренхіми.

Вже на 2-у добу нами не було виявлено жодних суттєвих морфологічних змін клітин печінки, за винятком наявності незначної кількості включень ліпідів та глікогену (рис. 6).

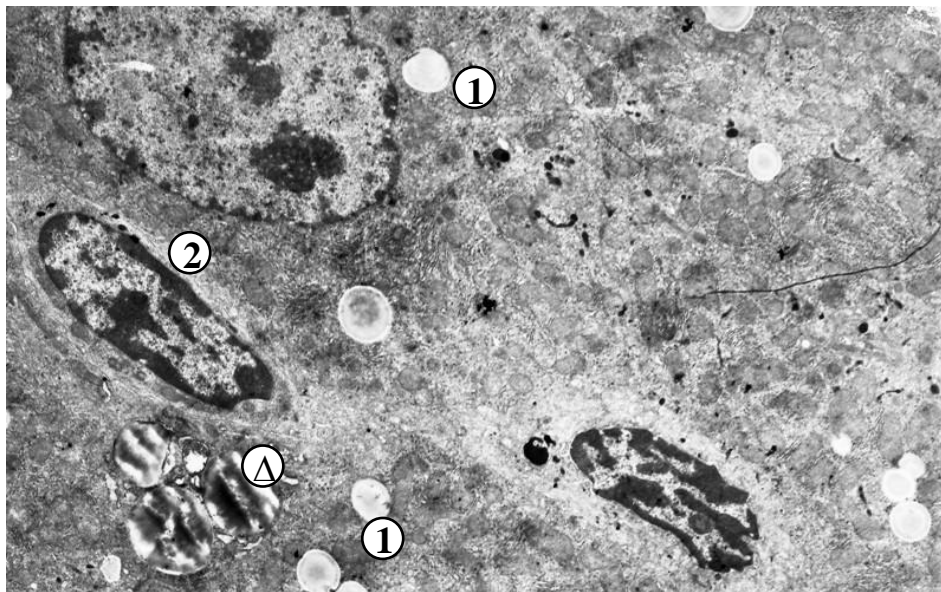


Рис. 6. Фрагменти печінки мишей, у яких для терапії експериментальної легеневої форми склерози застосовували *B. subtilis* штаму 1119 перорально: незначна кількість 1 – включень ліпідів, 2 – мітохондрій, Δ – каналців ендоплазматичної сітки в цитоплазмі гепатоцитів.

При інтраназальній інокуляції мишей штамом 1119 *B. subtilis* для попередження виникнення експериментальної легеневої склерози, зумовленої аналогічним застосуванням *K. rhinoscleromatis*, вже на другий день спостерігали повну елімінацію збудника з тестованих паренхіматозних органів і кісткового мозку, як і у випадку парентерального протективного використання даного штаму бацил. Зокрема, гепатоцити печінки містили добре розвинуті органели загального призначення та незначну кількість ліпідних включень і глікогену; клітини Купфера були розміщені переважно між ендотеліальними клітинами. Лікування тварин за допомогою пероральної інокуляції *B. subtilis* 1119 після внутрішньоочеревинної ін'єкції *K. pneumoniae* супроводжувалося збереженням типової будови клітин печінки, а також повною відсутністю бактеріальних клітин в органі. В гепатоцитах також спостерігали незначне зменшення кількості ліпідних включень. При інтраназальному введенні лабораторним мишам лише штаму *K. rhinoscleromatis* – експериментальна легенева склероза – виявляли в ці ж терміни інфекції у великій кількості бактеріальні клітини в паренхімі легень, які поглиналися нейтрофілами та макрофагами для наступного лізису (рис. 7).

При пероральному введенні *K. rhinoscleromatis* на 4-у добу у легенях також виявляли велику кількість патогенних бактерій на різних стадіях їх

знищення. Як правило, вони або поглинуті альвеолярними макрофагами, або знаходились вільно у просвіті альвеол. Слід відмітити наявне тут пошкодження альвеолоцитів, залишки яких можна побачити у цитоплазмі макрофагів. Бактеріальні клітини, потрапляючи у макрофаги, втрачають зовнішні структури, поступово лізуються і утворюють залишкові тільця. Залишки бактеріальних клітин спостерігаються у просвіті кровоносних капілярів. Останні оточені форменими елементами крові, що призводить до розладу функцій даного органу. Незначні пошкодження спостерігаються також і у внутрішньому вистеленні альвеол. Цитоплазма респіраторних альвеолоцитів значно потоншена. Слід відзначити, що в міжальвеолярних перетинках колагенові волокна щільно прилягають до респіраторних альвеолоцитів, такий епітелій частково випинає у просвіт альвеол, що перешкоджає газообміну.

Таким чином, модель експериментальної склеромної інфекції характеризувалася порушенням цілісності аерогематичного бар'єру, внаслідок чого відбувається потрапляння формених елементів крові у просвіт альвеол. Секреторні альвеолоцити містять видозмінені ламелярні тільця, мембрани яких чітко не означені, а утворюють фосfolіпопротеїнові комплекси, які частково виводяться у просвіт альвеоли, що може свідчити про пошкодження у них сурфактантної системи і поверхневого натягу.

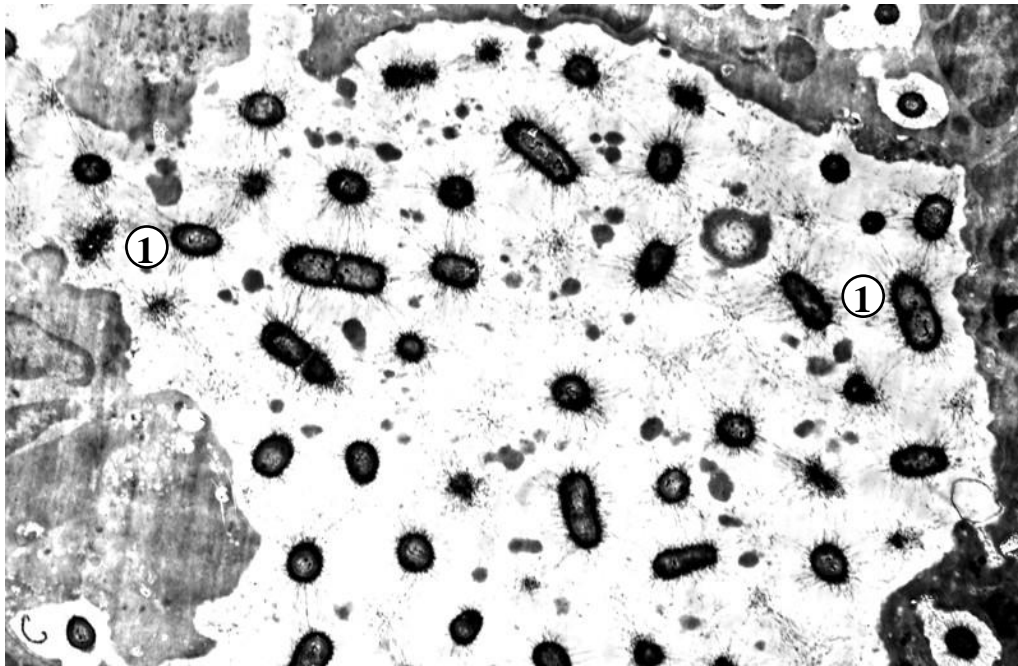


Рис. 7. Фрагменти паренхіми легень мишей, яким вводили інтраназально *K. rhinoscleromatis* (експериментальна склерома):
1 – експансія бактерій в паренхіму легень.

При інтраназальному способі інокуляції мишей *K. pneumoniae* бактерії знаходили у просвіті альвеол уже на другу добу. Помітними є наявні тут порушення будови капілярів і альвеол, причому респіраторний епітелій ушкоджений меншою мірою, ніж секреторний. Чіткими є також ділянки лізису сполучної тканини та базальної мембрани (симптоми локального запалення). В більшій мірі пошкоджуються секреторні альвеолоцити, ламелярні тільця частково або повністю лізуються і утворюють вакуолі, якими повністю заповнена вся цитоплазма альвеолоцитів другого типу. Судини obtуровані форменими елементами крові та коагулянтами білків крові. Виявлені формені елементи крові у просвіті альвеол свідчать про локальне пошкодження стінки альвеол. Незважаючи на порушення цілісності аерогематичного бар'єру та структурні зміни секреторних альвеолоцитів в капілярах, бактерії не виявлено. *K. pneumoniae* виявляють у незначній кількості на 4-у добу інвазії у просвіті альвеол легень, має місце зональне запалення і лейкоцитарна інфільтрація їх в паренхіму. Бактерії поглинаються макрофагами, інтенсивно лізуються, оточуючи клітини паренхіми легень і зазнаючи суттєвих змін. Просвіт кровоносних капілярів вистелений форменими елементами крові та білками плазми крові.

Профілактичне інтраназальне застосування *B. subtilis* при склеромній інфекції призводить до повного виведення *K. rhinoscleromatis* у легенях (рис. 8).

Наявність у просвіті альвеол залишків мембранного компоненту ламелярних тілець альвеолоцитів другого типу свідчить про пошкодження синтезу сурфактанту. При інтраназальному введенні *B. subtilis* з метою профілактики експериментальної пневмонії

не було виявлено бактеріальних клітин *K. pneumoniae* ні в кровоносних капілярах, ні в альвеолах. Ендотеліальне та епітеліальне вистелення потоншене і тому аерогематичний бар'єр має невеликі розміри. Стан секреторних альвеолоцитів аналогічний таким, як і при внутрішньоочеревинному введенні інфекту, однак у цьому випадку активація альвеолярних макрофагів є більш значною.

Пероральне застосування *B. subtilis* з метою профілактики експериментальної пневмонії, як і інтраназальне, теж призводило до виведення *K. pneumoniae* з паренхіми легень. Однак нами було зареєстровано зміни структурної організації легень, які скоріше за все відображають перебіг компенсаторно-приспосувальних процесів. Це, насамперед, значне потоншення ендотеліального вистелення до розмірів двох плазматичних мембран у кровоносних капілярах, утворення в зоні контактів ендотеліоцитів локусів витоку тощо. Всі ці зміни спрямовані на усунення перешкод транспорту поживних речовин. При цьому частина кровоносних капілярів obtурована форменими елементами крові та денатурованими білками плазми. Респіраторні епітеліоцити також потоншені, однак меншою мірою, ніж у контролі. Секреторні клітини альвеол характеризувались наявністю значної кількості ламелярних тілець, тільки ламелі у них практично відсутні і тільця мають вигляд вакуолей. В просвіті виявлено прикріплені і блукаючі макрофаги в активному стані, про що свідчить велика кількість лізосом та фагосом. До дистрофічних змін при завчасному пероральному використанні бацил для профілактики легеневої експериментальної форми пневмонії слід віднести також виявлене нами проникнення білків у альвеолярні перетинки.

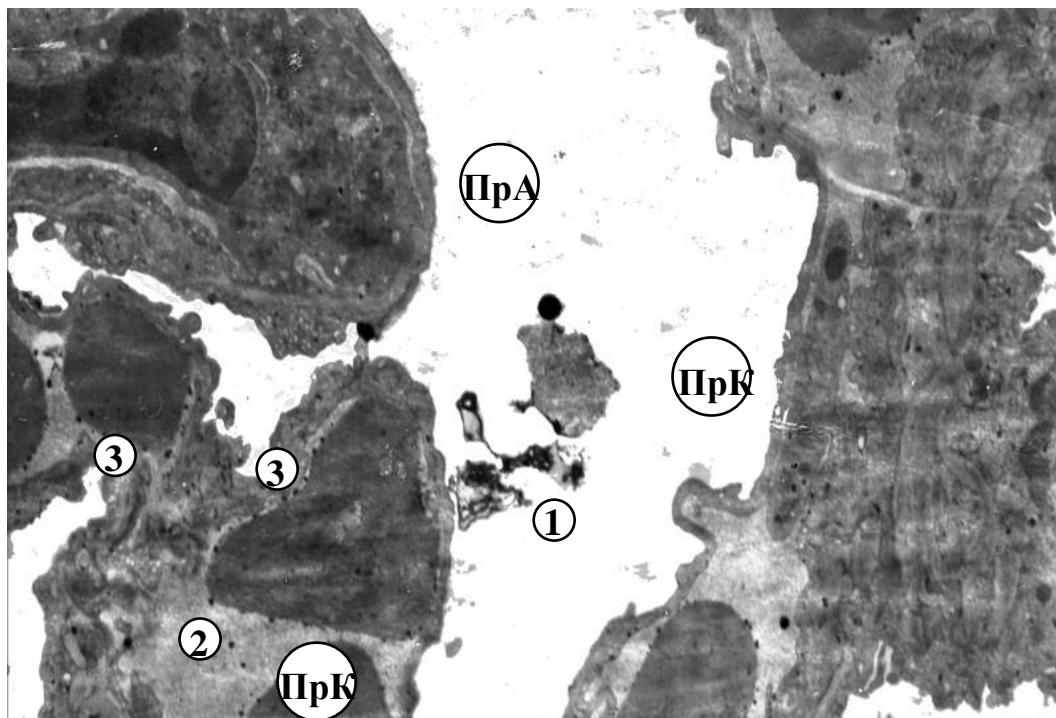


Рис. 8. Фрагменти легень мишей, яким інтраназально вводили *B. subtilis* як лікувальний засіб при експериментальній склеромній інфекції (*K. rhinoscleromatis*):

1 – залишки ламеол у просвіті альвеол, 2 – ламелярні тільця в альвеолоциті II порядку, 3 – аерогематичний бар'єр, ПрА – просвіт альвеол, ПрК – просвіт кровоносних капілярів (ПрК).

При інтраназальному введенні *B. subtilis* з метою лікування легеневої форми склероми ініціювало елімінацію *K. rhinoscleromatis* із малих бронхів. Пероральне застосування мишам *B. subtilis* для терапії цієї форми інфекції призвело до зникнення інфекту в респіраторному відділі легень: як в альвеолах, так і в кровоносних капілярах. Свідченням успішного лізису і наступного виведення патогену є наявність клітинного детриту в просвіті альвеол.

Пероральне застосування *B. subtilis* попереджувало також виникнення локальної склеромної інфекції навіть за умови парентерального введення *K. rhinoscleromatis*. Уже на 2-у добу спостереження бактеріальні клітини були відсутні в респіраторному відділі легень. Аерогематичний бар'єр виявився дещо потоншим, особливо периферійна частина ендотеліоцитів. Інколи у просвіті альвеол траплялися еритроцити та альвеолярні макрофаги. Секреторні альвеолоцити на місці ламелярних тілець мали вакуолі, за рахунок вивільнення фосфоліпідів, які в них продукуються. При пероральному введенні *B. subtilis* в якості лікувального засобу за умови пероральної інвазії *K. pneumoniae* (кишкова форма пневмонії) бактерії не були виявлені в жодному із відділів легень. Просвіт частини кровоносних капілярів був obtурований форменими елементами крові та білками плазми крові. Секреторні альвеолоцити залишились без особливих змін. Ламеолі секвеструються у альвеоли, що свідчило про порушення процесів секреції у легенях.

У просвіті альвеол спостерігалася також наявність активних макрофагів та залишків ламелярних тілець. Пероральне профілактичне застосування *B. subtilis* при кишковій формі експериментальної пневмонії теж призводило до знищення *K. pneumoniae* у просвіті альвеол та кровоносних капілярів. При пероральному введенні *K. pneumoniae* – контроль інфекції – відмічали бактеріальні клітини у просвіті товстої кишки, в криптах в оточенні слизу і глікокаліксу. Слиз та глікокалікс відіграють захисну функцію для клітин органу. Слід відзначити, що в клітинах товстого кишечника бактерій мало, відсутні суттєві зміни ентероцитів товстої кишки (рис. 9).

Спостерігали також підвищення активності клітин Пенета, в яких знаходили великі скупчення секреторних гранул, що містять дефензини (біологічно активні речовини), які захищають організм від інфекцій, та лізосом, що розчиняють оболонку бактерій. Антибактеріальна активність клітин Пенета пов'язана з активністю антигенпрезентуючих клітин (М-клітин), які виконують функцію фагоцитозу та передачі антигену клітинам Пенета або і далі: до лімфатичних вузлів.

У просвіті товстої кишки в оточенні слизу спостерігали наявність поодиноких бактеріальних клітин *K. pneumoniae* в результаті їх перорального введення. Слід відзначити, що тут у великій кількості виділявся слиз келихоподібними клітинами і, таким чином, на нашу думку, забезпечував захисну функцію. Окрім незначного

розширення міжклітинних просторів, суттєвих змін у структурі слизової оболонки не відзначено. Деякі клітини Пенета знаходились в активному стані (цистерни ендоплазматичної сітки розширені). Про активацію імунної відповіді свідчить незначне збільшення кількості внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів. Парентеральне введення *K. pneumoniae* призводило до появи поодиноких бактеріальних клітин як у слизі, так і внутрішньоклітинно (особливо в клітинах Пенета). Внаслідок цього збільшувалася кількість самих клітин і кількість лізосом. Інколи бактерії

виявляли і у стовпчастих клітинах, де накопичуються звичайно лише продукти розпаду. Поступово ці клітини гинуть шляхом апоптозу та відбувається десквамація їх решток у просвіт товстої кишки. При пероральному введенні *B. subtilis* для профілактики кишкової форми експериментальної пневмонії патогенних бактерій не виявлено. Бактеріальні клітини виявляють у цьому випадку лише у вигляді лізованих залишків у просвіті товстої кишки, в скупченнях глікокаліксу та слизу. Дещо пошкодженими є стовпчасті ентероцити.

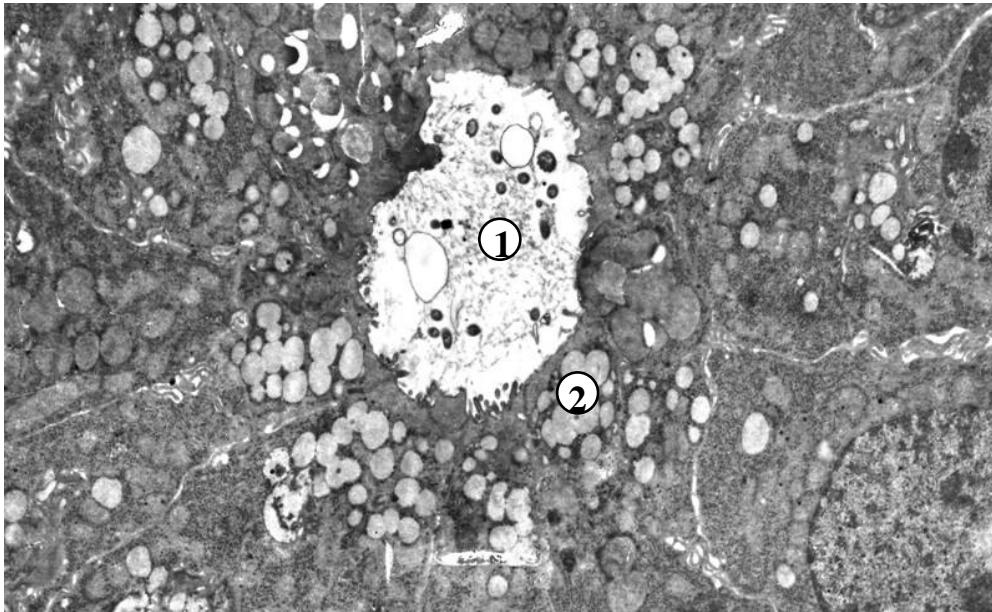


Рис. 9. Фрагменти слизової оболонки товстої кишки мишей, яким вводили *K. pneumoniae* перорально: 1 – бактерії у слизу, який виділяють 2 – келихоподібні клітини.

При електронно-мікроскопічному дослідженні слизової оболонки товстої кишки мишей, яким для профілактики парентеральної інвазії *K. pneumoniae* вводили аналогічно *B. subtilis*, було встановлено, що бактеріальні клітини тут відсутні. Разом з тим і в цьому випадку простежується активація клітин Пенета та наявність залишкових тілець в цих клітинах. Ушкодження ультраструктурної організації епітеліальної пластинки не виявлено. При пероральному введенні *B. subtilis* для лікування експериментальної кишкової пневмонії відмічали відсутність бактерій у просвіті кишечника. Не було їх знайдено і всередині епітелію кишки. Клітини Пенета зустрічалися тут в невеликій кількості, а серед ентероцитів виявлено ендокринні клітини.

Таке ж (пероральне введення *B. subtilis*) терапевтичне застосування бацил при гостросептичній інвазії (внутрішньоочеревинне введення *K. pneumoniae*) мало дещо слабшу ефективність: залишки бактерій, оточені слизом та глікокаліксом, спостерігали у просвіті кишки і крипт. В місцях розміщення зруйнованих

бактеріальних клітин пошкодженою є плазматична мембрана ентероцитів; в криптах, у просвіті яких знайдено бактеріальні рештки, збільшеною є кількість клітин Пенета. Однак в цілому внутрішнє вистилання слизової оболонки товстої кишки було відновлено.

Висновки. При відтворенні різних експериментальних моделей склеромної інфекції на лабораторних тваринах відмічали значну залежність величини doses certa letalis від способу введення інфекту. Вірулентність *K. rhinoscleromatis* 230 суттєво зростала і становила 100 млн. мікр. кл. на мишу (LD₁₀₀) при відтворенні локальної інфекції (кишкової і легеневої). У випадку внутрішньо-очеревинного введення (гостро септична модель) LD₁₀₀ *K. rhinoscleromatis* 230 була рівна 500 млн. мікр. кл. на мишу. Необхідно відзначити, що внутрішньо-очеревинне введення *K. rhinoscleromatis* 230 в малих дозах викликало локальну інфекцію в легенях, не спричиняючи сепсису, що робило проблематичним визначення малих доз збудника склероми. Doses certa letalis *K. pneumoniae* 3785

практично не залежала від способу введення і залишалась незмінною (100 млн. мікр. кл. на мишу).

Перспективи подальших розробок. Одержані нами гістологічні свідчення профілактичної і терапевтичної проти-клебсієльозної ефективності перорального,

парентерального і інтраназального застосування штаму 1119 *B. subtilis* доводять перспективність його використання в першу чергу як дієвого протисклеромного бактеріального препарату. Для впровадження такого бактеріального препарату в медичну практику необхідним є проведення клінічних випробувань.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бойко Н. В. Патоморфологічні особливості експериментальної клебсієльозної інфекції / Н. В. Бойко, М. В. Лисецька, А. В. Матвієнко // Лабораторна діагностика. — 1998. — №4 (6) — С. 32—36.
2. Коваль Г. М. Сімейна склерома на Закарпатті: етіологія, клініка та перспективи лікування / Г. М. Коваль // Міжнародн. наук. конф. "Мікробні біотехнології". — 11 — 15 вересня 2006 р. тези допов. — Одеса, 2006. — С. 134.
3. Мишонь П. Ответ кишечной ткани мышей на экспериментальную инфекцию *Klebsiella pneumoniae* и бацилл / П. Мишонь, Й. Виклицкий, В. Страд та ін. // Чехословацкая медицина. — 1991 — Т. 3/80, № 2. — С. 184 — 191.
4. Пат. 25671А України, МПК С 12 N 1/20, А 61 К 35/74. Штам *Bacillus subtilis* - активний антагоніст збудників склероми людини / Н. В. Бойко, М. В. Лисецька. — №97126352, заявник і патентовласник Ужгородський національний університет; заявл. 26.12.1997, опуб. 25.12.1998, Бюл. № 6.
5. Antimicrobial Resistance in Bacteria / [ed. С. F. Amabile—Cuevas]. — Horizon Scientific Press, 2006. — 201 p.
6. Botelho-Nevers E. Chronic nasal infection caused by *Klebsiella rhinoscleromatis* or *Klebsiella ozaenae*: two forgotten infectious diseases / E. Botelho-Nevers, F. Gouriet, H. Lepidi [et all.] // Int. Journal of Infect. Dis. — 2007. — Vol. 11, № 5. — P. 423 — 429.
7. Fallon R. J. The relationship between the biotype of *Klebsiella* species and their pathogenicity / R. J. Fallon // J. Clin. Pathol. — 1973. — Vol. 26, № 7. — P. 523—528.
8. Haruon A. A. Experimental study in scleroma / A. A. Haruon, I. Abdel-Razik, M. E. Mallah // J-Egypt Public Health Association. — 1985. — № 60. — P. 19 — 46.
9. Podschun K. Comparative investigations of *Klebsiella* species of clinical origin: plasmid patterns, biochemical reactions, antibiotic resistance and serotypes / K. Podschun, P. Heinekcn, U. Ulmann [et all.] // Zbb. Bacteriol., Mikrobiol. und Hyg. — 1986. — Vol. 262, №9. — P. 335—345.
10. Talaat M. Experimental scleroma. A histopathological study / M. Talaat, A. Soliman, H. Gaarar [et all.] // J. Laryngol-Otol. — 1978. — № 92 (6). — P. 489 — 498.
11. Yamauchi K.—E. Transmission electron microscopic demonstration of phagocytosis and intracellular processing of segmented filamentous bacteria by intestinal epithelial cells of the chick ileum / K.—E. Yamauchi, J. Snel // Infect. Immun. — 2000. — Vol. 68. — P. 6496—6504.

H. M. KOVAL, N. V. BOYKO

Uzhhorod National University, Faculty of Medicine, Department of Microbiology, Virology, Immunology with the Course of Infectious Diseases, Uzhhorod

STUDY OF THE PATHOGENESIS OF VARIOUS FORMS OF KLEBSIELLA INFECTION ON EXPERIMENTAL MODELS AND ANTI-KLEBSIELLOSES EFFICIENCY OF *BACILLUS SUBTILIS* STRAIN 1119

The histological investigations of the pathogenesis of pulmonary, intestinal and septic forms of experimental klebsiella infections reproduced by various schemes and ways of introduction of *Klebsiella rhinoscleromatis* and *Klebsiella pneumoniae* had been performed. Pathogenesis of pulmonary "scleroma" and intestinal "pneumonia" as the most suitable experimental models had been described and proposed and the results of in vitro testing of the effectiveness of prophylactic and therapeutic application of *Bacillus subtilis* strain 1119 for such infections had been obtained and confirmed.

Key words: experimental klebsiella infections, *K. rhinoscleromatis* and *K. pneumoniae*, *B. subtilis* strain 1119, pathogenesis

Стаття надійшла до редакції: 23.05.2011 р.