

## ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА, ВЫЗВАННОГО КУЛЬТИВИРУЕМЫМИ И НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫМИ БАКТЕРИЯМИ НА ФОНЕ ОЖГОВОЙ ТРАВМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

С. П. Сахаров, Л. Б. Козлов

Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России  
Россия, 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, д. 54

### Specific Features of Development of the Infectious Process Caused by Cultivable and Non-Cultivable Bacteria in the Presence of Experimental Burn Injury

S. P. Sakharov, L. B. Kozlov

Tyumen State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation  
54, Odesskaya St., Tyumen 625023, Russia

**Цель исследования.** Изучить динамику развития инфекционного процесса, вызванного культивируемыми и некультивируемыми бактериями на фоне ожоговой травмы в эксперименте.

**Материалы и методы.** Исследовали 64 кролика, инфицированных в опытных группах подкожно культивируемыми и некультивируемыми бактериями *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* в дозе  $10^5$  степени микробных клеток на фоне ожоговой травмы и в двух контрольных группах животных, которым не была нанесена термическая травма. Ожоговую травму кролики получали на фоне наркоза со степенью поражения IIIAB. Некультивируемые бактерии вводили по методике предложенной Л. Б. Козловым с соавт., используя хладотермостат. Динамику развития инфекционного процесса наблюдали в течение 21 дня. Погибших животных вскрывали и определяли концентрацию бактерий во внутренних органах. В гистологических срезах определяли наличие патологических изменений. Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью компьютерной программы STATISTIKA v 6.0, с использованием средней арифметической ошибки ( $M \pm m$ ). Результаты исследований статистически обрабатывали с определением критерия *t* Стьюдента и Вилкоксона-Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили с помощью программного комплекса «Microsoft Excel-97» для IBM PC с вычислением коэффициента корреляции и его ошибки.

**Результаты.** Культивируемые бактерии на фоне ожоговой травмы вызывали инфекционный процесс во внутренних органах животных с развитием сепсиса на 8–12 день болезни с летальным исходом, а некультивируемые бактерии на фоне ожоговой травмы вызывали гибель животных в результате поражения головного мозга на 2–3 сутки с выделением *P.aeruginosa* из мозговой ткани.

**Заключение.** На течение ожоговой болезни в организме кроликов породы «шиншилла» существенное влияние оказывали как культивируемые, так и некультивируемые бактерии. Некультивируемые бактерии *P.aeruginosa* обладали тропизмом к нервной ткани, а у культивируемых бактерий тропизма не выявлено.

**Ключевые слова:** инфекционный процесс, ожоговая травма, культивируемые и некультивируемые бактерии *P.aeruginosa*

**Objective:** to study a trend in the development of the infectious process caused by cultivable and non-cultivable bacteria in Chinchilla rabbits with burn disease.

**Materials and methods.** The investigators examined 64 rabbits subcutaneously infected with cultivable and non-cultivable *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* at a dose of  $10^5$  microbial cells in the presence of burn injury in experimental groups and in two similar control groups of animals without thermal injury. Rabbits were exposed to IIIAB degree burn injury under anesthesia. The non-cultivable bacteria were obtained by the pro-

Адрес для корреспонденции:

Леонид Козлов  
E-mail: kozlov@tyumsma.ru

Correspondence to:

Leonid Kozlov  
E-mail: kozlov@tyumsma.ru

## Infectious complications

cedure proposed by L. B. Kozlov et al., by applying a refrigerated heating circulator. The trend in the development of the infectious process was observed during 21 days. Dead animals were dissected; bacterial concentrations were estimated in their viscera and abnormal changes were determined in the histological specimens. The results of the investigations were statistically processed according to STATISTICA 6.0 using the mean arithmetic error ( $M \pm m$ ). Differences were statistically evaluated by Student's t-test and the Mann-Whitney test. A correlation analysis was made applying the software package Microsoft Excel-97 for IBM PC to compute correlation coefficients and their errors.

**Results.** The cultivable bacteria in the animals with burn injury induced an infectious process in their viscera to develop sepsis on days 8–12 of the disease with a fatal outcome and the non-cultivable bacteria in those with burn disease caused death due to brain injury on days 2–3, with *P.aeruginosa* isolated from brain tissue.

**Conclusion.** Both the cultivable and non-cultivable bacteria had significant effects in Chinchilla rabbits with burn disease. Non-cultivable *P.aeruginosa* had a tropism for nerve tissue, which was not found in the cultivable bacteria.

**Key words:** infectious process, burn disease, cultured and non-cultured *P.aeruginosa*

DOI:10.15360/1813-9779-2015-5-15-24

## Введение

Инфекционные осложнения являются одной из важных проблем реаниматологии [1–4]. В настоящее время известно около 45 видов микроорганизмов, относящихся к 30 родам, у которых обнаружены некультивируемые формы существования бактерий, из них 30 видов микроорганизмов патогенны для человека, а 15 видов бактерий относят к условно-патогенным или эубионтам человека, животных или растений [5–7]. Имеются сообщения о выделении некультивируемых форм бактерий в популяциях возбудителей холеры [8–11], туберкулеза [12], туляремии [13], легионеллеза [14], энтеропатогенных кишечных палочек [15, 16]. Феномен некультивируемости бактерий известен давно, однако, в периодической литературе встречаются единичные сообщения об их роли в инфекционном процессе. В основном, рассматривается возможность перехода бактерий в культивируемое состояние, как возможных возбудителей инфекционных заболеваний.

Ожоговая травма, обычно, сопровождается развитием генерализованного инфекционного процесса с высоким процентом летальности [17–21]. Поэтому актуальным является изучение влияния ожоговой травмы на развитие инфекционного процесса, вызванного культивируемыми и некультивируемыми бактериями.

## Материал и методы

Для решения поставленных задач изучали динамику развития инфекционного процесса у кроликов породы «шиншилла» на фоне ожоговой травмы. В качестве контроля провели заражение культивируемыми и некультивируемыми бактериями животных, которым не была предварительно нанесена термическая травма. Наблюдали 4 группы животных по 16 кроликов в каждой группе: 1. Кролики, инфицированные подкожно культивируемыми бактериями *P.aeruginosa* и *S.aureus* на фоне ожоговой травмы; 2.

## Introduction

Infectious complications represent an important challenge in reanimatology [1–4]. Currently there are about 45 species of microorganisms belonging to 30 genera among which the non-cultivable forms of bacteria have been identified. The latter, include 30 species of microorganisms pathogenic for humans and 15 species of opportunistic, or eubiont, bacteria of humans, animals or plants [5–7]. There are reports on the allocation of non-cultivable forms of bacteria in populations of the causative agents of cholera [8–11], tuberculosis [12], tularemia [13], legionellosis [14] and enteropathogenic *Escherichia coli* [15, 16]. The phenomenon of «non-cultivability» of bacteria have long been known, however, in the periodic literature there are few reports on their role in the infectious process. Basically, transition from the state of non-cultivable bacteria to cultured bacteria might be considered as a possible cause of infectious diseases.

Burn injury usually is accompanied by the development of a generalized infectious process with a high rate of mortality [17–21]. Therefore, the study of effect of burn trauma on the development of infectious process caused by cultured and non-culturable bacteria is of current interest.

## Materials and Methods

To solve the tasks we studied the dynamics of infectious process in chinchilla rabbits following burn injury. Animals with no burn trauma infected with uncultured or cultured forms of bacteria were used as groups of comparison (controls). As a control, was performed infecting cultivated and uncultivated bacteria of animals that have not been pre-applied thermal trauma. Four groups of rabbits were under investigation, 16 animals in each group that received subcutaneously: (1) cultured bacteria *P.aeruginosa* and *S.aureus* following the burn injury; (2) non-cultivable bacteria *P.aeruginosa* and *S.aureus* following the burn injury; (3) cultured bacteria *P.aeruginosa* and

Кролики, инфицированные подкожно некультивируемыми бактериями *P.aeruginosa* и *S.aureus* на фоне ожоговой травмы; 3. Кролики, инфицированные подкожно культивируемыми бактериями *P.aeruginosa* и *S.aureus*. 4. Кролики, инфицированные подкожно некультивируемыми бактериями *P.aeruginosa* и *S.aureus*. Животным одновременно вводили смесь бактерий *P.aeruginosa* и *S.aureus* в равной концентрации —  $10^5$  степени микробных клеток. Наркоз осуществляли по методике, предложенной А. В. Разиной [22], а затем животным наносили термическую травму. Поверхность спины и боковые поверхности туловища кроликов погружали в водяную баню на 10 сек при температуре  $90^\circ\text{C}$ . Кролики получали ожоговую травму со степенью поражения IIIAB.

Масса тела кроликов в исследуемых группах животных находилась в пределах 2234–2435 грамм, а ожоговая поверхность — 15,5–17,7% площади поверхности тела. Различия в массе тела кроликов и площади нанесенного ожога III AB степени в исследуемых группах кроликов были незначительными ( $p>0,05$ ).

Для воспроизведения экспериментальной инфекции у кроликов использовали культуры бактерий *P.aeruginosa* и *S.aureus*, выделенные от больных, находящихся на лечении в ожоговом отделении ГБУЗ ТО «Областной клинической больницы № 1» г. Тюмени. Микробиологические исследования проводили в соответствии с требованиями приказа МЗ РФ №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследований, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Идентификацию бактерий проводили, используя определитель бактерий по Берджи [23]. Некультивируемые бактерии выделяли от людей с ожоговой болезнью. Их концентрацию определяли по методике предложенной Л. Б. Козловым с соавт., используя хладотермостат [24, 25].

Опыты на кроликах проводили в виварии ФГБОУ ВПО «Государственного аграрного университета Северного Зауралья». Здоровых кроликов содержали в клетках в соответствии с требованиями санитарных правил (Утв. Главным Государственным санитарным врачом №1045-73).

Для выявления преморбидного фона за кроликами наблюдали в течение 21 дня до проведения опыта. Отбраковывали кроликов с признаками инфекционной патологии. После срока карантина кроликов помещали в экспериментальные клетки собственной конструкции [26] и в течение 3-х дней наблюдали за животными (процесс адаптации животных к новым клеткам). В виварии поддерживали температуру воздуха  $24\text{--}26^\circ\text{C}$  в соответствии с приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 и требованиями Европейской конвенции (Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, выводу их из эксперимента и последующей утилизации.

В период эксперимента за кроликами проводили наблюдение в течение 21 дня. Погибших животных вскрывали и исследовали внутренние органы. Определяли концентрацию бактерий в органах животных и выявляли патологические изменения в гистологических препаратах. Для проведения гистологических исследований внутренние органы животных фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и

*S.aureus* (intact rabbits); (4) non-cultivable bacteria *P.aeruginosa* and *S.aureus* (intact rabbits). Animals were simultaneously injected bacteria *P.aeruginosa* and *S.aureus* at a concentration equal to  $10^5$  degree of microbial cells. Anesthesia was performed according to the method proposed by A. V. Rasina [22], and then the animals inflicted thermal injury. The back surface and side surfaces of the trunk of rabbits were immersed in a water bath for 10 sec at a temperature of  $90^\circ\text{C}$ . Rabbits received a burn injury of degree IIIAB.

The body weight of rabbits in the study groups of animals ranged 2234–2435 grams and burned surface was 15.5–17.7% of the total surface area of the body. Differences in body weight of rabbits and burned areas were not significant ( $P>0.05$ ).

To reproduce the experimental infection in rabbits the bacterial cultures of *P.aeruginosa* and *S.aureus*, isolated from patients undergoing treatment in the Burn unit GBUZ TO «Regional clinical hospital №1» in Tyumen, were deployed. Microbiological studies were performed in accordance with the requirements of the order of Ministry of Public Health of RF N 535 «On the unification of microbiological (bacteriological) research methods for practice in clinical diagnostic laboratories of medical institutions». Bacteria were identified with the aid of Berge' bacterial qualifier [23]. Non-cultivable bacteria were isolated from patients with burn disease and their concentration was determined by the method proposed by L. B. Kozlov et al., using thermofridge [24, 25].

Experiments on rabbits were carried out in vivarium of FG BOU VPO «the State Agrarian University of Northern Zauralye». Healthy rabbits were kept in cages in accordance to requirements of sanitary regulations (Appr. Chief State sanitary doctor, N 1045-73).

To identify premorbid background before the experiment, the rabbits were observed for 21 days. Rabbits with signs of infectious disease during quarantine were not included in the study. After the quarantine period the rabbits were placed into experimental cage of original design [26] and within 3 days animals were kept under observation for adaptation to new cages. In the vivarium a temperature of  $24\text{--}26^\circ\text{C}$  was maintained in accordance to the order of the Ministry of Public Health of Russian Federation, N. 267 from 19.06.2003, and requirements of the European Convention (Strasbourg, 1986) on housing, feeding and care of animals for research, and subsequent discarding and disposal of animals.

During the experiment the rabbits were under surveillance for 21 days. Dead animals were dissected and internal organs examined. Concentration of bacteria in the organs of animals was determined and pathological changes in histological preparations were identified. For histological studies the internal organs of animals were fixed in 10% neutral formalin and prepared for histological sections by the method of freezing and pouring into the wax. Histological specimens were stained with hematoxylin and eosin, Sudan III (for identification of fat droplets), Pero, the best (identification of granules of glycogen); accumulation of fibrin was determined by the method of D. D. Zerbino.

Statistical processing of the results was carried out using a computer program STATISTIKAv 6.0, and arithmetic means and errors ( $M\pm m$ ) were computed. All obtained data were statistically processed using Student's

## Infectious complications

готовили гистологические срезы методом заморозки и заливки в парафин. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином, суданом III (выявление капель жира), по Перо, Бесту (выявление гранул гликогена), скопление фибрина определяли по методу Д. Д. Зербино.

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью компьютерной программы STATISTIKA v 6.0, с использованием средней арифметической ошибки ( $M \pm m$ ). Все полученные данные статистически обрабатывали с определением критерия  $t$  Стьюдента и Вилкоксона — Манна—Уитни. Корреляционный анализ провели с помощью программного комплекса «Microsoft Excel-97» для IBM PC с вычислением коэффициента корреляции и его ошибки.

### Результаты и обсуждение

В результате развития клинической симптоматики и патологических изменений в организме животных наблюдали гибель кроликов. Гибель кроликов после введения культивируемых бактерий регистрировали с 8 по 12 день болезни, а на фоне ожоговой травмы животные погибали в период с 12 по 19 день. Гибель животных на фоне ожоговой травмы отмечали на 4 дня позднее по сравнению с группой животных, которым не была нанесена термическая травма.

Анализ микробной обсемененности внутренних органов животных инфицированных культивируемыми бактериями показал, что культура *P.aeruginosa* обладала односторонним антагонизмом в отношении культуры *S.aureus*. На 8 день болезни кроликов из легких и почек выделить культуру *S.aureus* не удалось, а концентрация *P.aeruginosa* составила  $3,0 \pm 0,3 \times 10^3$  микробных клеток в 1 грамме ткани.

Выявили транслокацию *Escherichia coli* из кишечника животных во внутренние органы. На 8 день болезни кроликов в печени концентрация *E.coli* составила  $1,1 \pm 0,03 \times 10^3$ . В почках *E.coli* определяли с 9 до 21 день после инфицирования кроликов в концентрациях  $3,6 \pm 0,1 \times 10^2$  —  $1,2 \pm 0,1 \times 10^3$ . Очевидно, гибель животных была обусловлена развитием инфекционного процесса, вызванного бактериями *P.aeruginosa* и *E.coli*.

Анализ микробной обсемененности внутренних органов животных инфицированных культивируемыми бактериями на фоне ожоговой травмы показал, что при ожоговой травме наблюдалась более выраженная транслокация бактерий из кишечника животных по сравнению с группой животных, которым не была нанесена термическая травма. Концентрация *E.coli* в печени с 12 до 15 дня болезни кроликов постоянно поддерживалась на уровне 9 логарифмов, а в легких такая концентрация бактерий сохранялась с 12 по 13 день болезни, т.е. количество бактерий было выше порогового уровня для развития сепсиса. Возможность развития сепсиса в условиях

t test and Wilcoxon — Mann — Whitney test. Correlation analysis was conducted using the software package Microsoft Excel-97» for the IBM PC with computing correlation coefficients and  $P$  values.

### Results and discussion

As a result of the development of clinical symptoms and pathological changes in animals rabbits were dying. After administration of cultured bacteria, the death of the rabbits were recorded from the 8<sup>th</sup> to 12<sup>th</sup> day of the disease; following the burn injury, the animals were killed between 12<sup>th</sup> day and 19<sup>th</sup> day. Death of animals with burn trauma was observed four days later compared to the group of animals with no thermal injury.

Analysis of microbial contamination of the internal organs of animals infected with cultured bacteria showed that the culture of *P.aeruginosa* experienced a one-sided antagonism from the culture of *S.aureus*. On day 8 of the disease attempts to isolate growing culture of *S.aureus* from lungs and kidneys failed, whereas the concentration of *P.aeruginosa* was estimated as  $3.0 \pm 0.3 \times 10^3$  microbial cells in 1 gram of tissue.

Translocation of *E.coli* from the intestines of animals to the internal organs was revealed. On day 8 of the disease of rabbits the concentration of *E.coli* in the liver was  $1.1 \pm 0.03 \times 10^3$ . In the kidney *E.coli* was observed from 9 to 21 days after infection of rabbits at concentrations of  $3.6 \pm 0.1 \times 10^2$  —  $1.2 \pm 0.1 \times 10^3$ . Obviously, the death of animals was due to the development of infectious process caused by bacteria *P.aeruginosa* and *E.coli*.

Analysis of microbial contamination of the internal organs of animals infected with cultured bacteria following burn injury showed that in burn disease more bacterial translocations from the intestines of animals occurred compared to the group of animals with no thermal injury. The concentration of *E.coli* in the liver within the period from 12 to 15 days of burn-induced illness rabbits were maintained at a level of 9 lg, whereas in the lungs the concentration of bacteria was maintained from 12 to 13 days of illness demonstrating the number of bacteria that was above the threshold level for the development of sepsis. The possibility of developing sepsis due to translocation of *E.coli* provides a base for the development of specific therapies aimed at preventing the development of sepsis caused by *E.coli*. It was impossible to isolate *E.coli* from the lungs and liver later. *E.coli* were allocated from kidneys up to 15<sup>th</sup> day of sickness of rabbits.

The translocation of *E.coli* from the intestines of animals was documented in histological specimens from the intestine. In animals killed within the period from 12<sup>th</sup> to 15<sup>th</sup> day the alterations of the intestine were observed. Examined histological sections demonstrated hyperemia of submucosa and mucosa of the intestine (Fig. 1).



транслокации *E.coli* дает основание для разработки специфической терапии направленной на предупреждение развития сепсиса в этот период, вызванного кишечной палочкой. В более поздние сроки из легких и печени выделить *E.coli* не удалось. Из почек *E.coli* выделялась до 15 дня болезни кроликов.

О транслокации кишечной палочки из кишечника животных свидетельствуют гистологические препараты. У животных погибших в период с 12 по 15 день наблюдали повреждение кишечника. На гистологических срезах отметили полнокровие сосудов подслизистого слоя и разрыв слизистой оболочки кишечника (рис. 1).

Концентрация культивируемой *P.aeruginosa* в организме кроликов в этот период (с 12 по 13 день болезни кроликов) не превышала 4 lg, а на 14–15 день болезни кроликов в легких количество *P.aeruginosa* составило  $4,2 \pm 0,2 \times 10^9$ , в печени —  $5,2 \pm 0,8 \times 10^9$ , а в почках —  $2,1 \pm 0,3 \times 10^5$ . Таким образом, наблюдалась смена возможных возбудителей, вызывающих сепсис у лабораторных животных. К 21 дню количество *P.aeruginosa* в почках снизилось до  $7,1 \pm 0,1 \times 10^3$ .

Итак, у лабораторных животных выявлены критические дни возникновения сепсиса, вызванного разными видами бактерий: *E.coli* и *P.aeruginosa*.

Результаты микробиологических исследований показали, что при ожоговой травме создаются благоприятные условия для размножения *E.coli* и *P.aeruginosa*, а репродукция *S.aureus* не наблюдалась, возможно, в результате антагонистических взаимоотношений между этими бактериями.

Результаты исследований по выявлению влияния ожоговой травмы на гибель лабораторных животных показали, что существенных различий в количестве погибших кроликов в исследуемых группах не отмечено. При введении некультивируемых бактерий на фоне ожоговой травмы погибло 92,4% кроликов, а в условиях отсутствия термической травмы погибло 87,5% животных. При введении культивируемых бактерий на фоне ожоговой травмы погибло 75% кроликов, а без нанесения ожога — 84,7%.

Ожоговая травма оказывала существенное влияние на течение инфекционного процесса, вызванного культивируемыми и некультивируемыми бактериями. Наблюдалось осложнение ожоговой травмы сопутствующим инфекционным процессом. В условиях инфицирования животных некультивируемыми бактериями на фоне ожоговой болезни на 2–3 сутки у животных отмечали симптоматику поражения головного мозга (отмечали судороги мышц, беспокойство, крик животных, развитие шока и гибель животных в течение первых двух суток). При вскрытии погибших животных отмечен отек мозговой ткани. На гистологических срезах головного мозга обнаружены признаки отека мягких

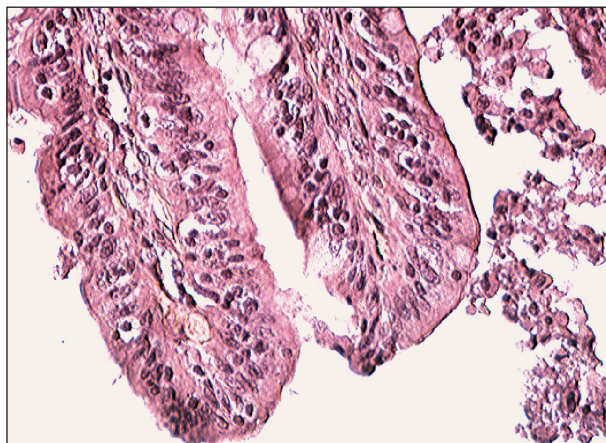


Рис. 1. Участки отсутствия слизистой оболочки кишечника у кролика, инфицированного культивируемыми бактериями на фоне ожоговой травмы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 40$ .

Fig. 1. Lack of intestinal mucosa of a rabbit infected with cultured bacteria following burn injury. Stained with hematoxyline and eosine,  $\times 40$ .

The concentration of cultured *P.aeruginosa* in the body of rabbits during this period (from 12 to 13 day of burn disease) did not exceed 4,0 lg, and on day 14–15 of the disease the number of *P.aeruginosa* was  $4.2 \pm 0.2 \times 10^9$  in the lungs, in the liver and  $5.2 \pm 0.8 \times 10^9$  in the liver and  $2.1 \pm 0.3 \times 10^3$  in kidneys. Thus, there was a change in possible pathogens causing sepsis in laboratory animals. By the 21<sup>st</sup> day, the number of *P.aeruginosa* bacteria in kidney decreased to  $7.1 \pm 0.1 \times 10^3$ .

Therefore, critical days of occurrence of sepsis caused by different types of bacteria, *E.coli* and *P.aeruginosa* were revealed in laboratory animals.

The results of microbiological studies showed that in burn disease there are conditions favorable for the growth of *E.coli* and *P.aeruginosa*, whereas reproduction of *S.aureus* was not observed presumably because of the antagonistic relationship between these bacteria.

The results of studies to identify the impact of burn injury on the death of laboratory animals showed no any significant differences in the number of dead rabbits in groups: (a) after administration of non-cultured bacteria to the rabbits under burn injury 92.4% of rabbits died, whereas in the absence of thermal injury 87.5% of the animals died; (b) administration of cultured bacteria following burn injury killed 75% of rabbits, whereas similar administration of bacteria to control animals resulted in 84.7% animals killed.

Burn injury significantly affected the infectious process caused by cultivable and non-cultivable bacteria. Complications of burn disease with concomitant infections were observed. Under infection of animals with non-cultivable bacteria on the background of burn disease at days 2–3 animals exhibited symptoms

## Infectious complications

мозговых оболочек, их утолщение, разрыхление волокнистых структур (рис. 2).

В крупных оболочечных сосудах наблюдали полнокровие, а в мелких — стаз. Отмечен неравномерно выраженный периваскулярный отек мозговой ткани. Эндотелий сосудов: наблюдались клетки с набухшими ядрами и со сморщиванием ядра вплоть до пикноза. В эндотелии и адвентициальных клетках накапливались липиды. В отделах коры больших полушарий и мозжечка, в полосатом теле, ядрах зрительного бугра, субталамическом ядре Люиса обнаружили различной формы некробиотические изменения нервных клеток. При микробиологическом исследовании из тканей головного мозга была выделена культура *P.aeruginosa*.

В условиях инфицирования животных культивируемыми бактериями на 12–14 день ожоговой болезни регистрировали симптоматику поражения внутренних органов, а на 15–19 день болезни животных появились признаки поражения ЦНС. У животных, которым не была нанесена термическая травма, культивируемые бактерии вызывали поражение внутренних органов животных.

Поражение головного мозга при ожоговой травме у больных людей наблюдал С. Е. Хрулев с соавт. [27–29] при наличии сопутствующего инфекционного процесса. На основании морфометрических показателей компьютерных томограмм головного мозга и уровня нейрон-специфической енолазы в сыворотке крови больных, установлены поражения головного мозга в период с 1 по 5 день и с 16 по 18 день болезни.

Именно в эти сроки нами наблюдалась гибель экспериментальных животных при ожоговой травме: на 2–3 сутки наблюдались поражения головного мозга вызванного подкожным введением некультивируемых бактерий и на 15–19 сутки после введения культивируемых бактерий *P.aeruginosa* и *S.aureus*.

Культивируемые и некультивируемые бактерии у животных вызывали поражение желудочно-кишечного тракта. При аускультации в области живота у животных регистрировали отсутствие звуков в  $28,6 \pm 12,5\%$  случаев. Животные отказывались от еды в  $42,9 \pm 13,7\%$  и, объективно, у этих животных отмечалось вздутие живота в  $42,9 \pm 13,7\%$ . Отмеченные клинические признаки дают основание предположить, что у животных развивался парез кишечника. Очевидно, летальный исход у этих животных был связан с дисфункцией желудочно-кишечного тракта и поражением внутренних органов в результате транслокации *E.coli*. На гистологических срезах кишечника наблюдалось полнокровие сосудов подслизистого слоя и разрыв слизистой оболочки кишечника. После заражения кроликов 4-й группы некультивируемыми бактериями кишечную

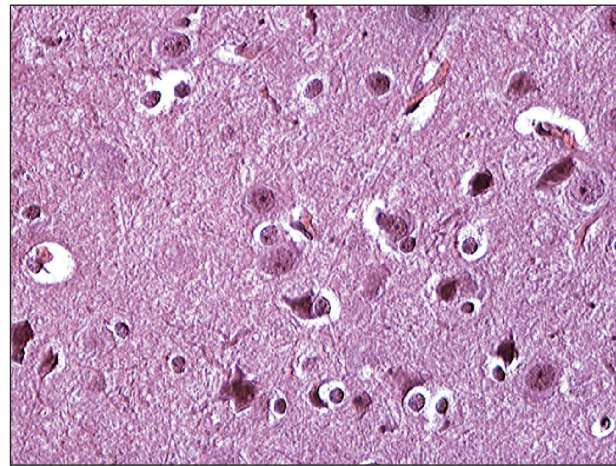


Рис. 2. Периваскулярный и перикеллюлярный отек головного мозга у кролика инфицированного некультивируемыми бактериями *P.aeruginosa* и *S.aureus* на фоне ожоговой травмы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 40$ .

Fig. 2. Perivascular and pericellular cerebral edema in a rabbit infected with non-culturable bacteria *P.aeruginosa* and *S.aureus* following burn injury. Stained with hematoxyline and eosine,  $\times 40$ .

of brain lesions (indicating muscle cramps, anxiety, cry of animals, developing shock and death during the first two days). Autopsy of dead animals showed swelling of the brain tissue. Histological sections of the brain showed signs of swelling of the meninges, their thickening and loosening of fibrous structures (Fig. 2).

In larger meningeal vessels the hyperemia was observed, whereas small vessels were characterized by stasis. In addition, irregularly significant pericellular swelling of the brain tissue was observed. The vascular endothelium: cells with swollen nuclei and shrinkage of the nucleus until pycnosis. Endothelium and adventitia cells: lipids were accumulated. In parts of the cerebral cortex and the cerebellum, striatum, nucleus of thalamus, subthalamic nucleus Lewis various forms of necrobiotic changes of nerve cells were observed. Microbiological examination of brain tissue resulted in isolation of cultivable *P.aeruginosa*.

In animals infected with cultured bacteria following induction of burn disease on days 12–14 of illness lesions of the internal organs were recorded. On days 15–19 day post-burn the animals showed signs of CNS lesions. In animals not suffered from thermal injury, cultivable bacteria caused damage of internal organs of animals.

Brain damage in burn disease in sick people was investigated by S. E. Khrulev et al. [27–29] and there was an associated infectious process. On the base of morphometric parameters of computer tomograms of the brain and determining the level of neuron-specific enolase in the serum of patients, occurrence of brain lesions within the period from days 1–5 day and days 16–18 of illness were defined.

By this date we have observed the death of experimental animals with burns: brain lesions caused by subcutaneous injection of non-culturable

палочку в печени определяли через 48 часов в концентрации  $0,8 \pm 0,1 \times 10^2$ . Она сохранялась в такой же концентрации до 21 дня наблюдения за кроликами. В легких *E.coli* определяли в период с 5 по 7-е сутки в концентрации  $1,0 \pm 0,1 \times 10^3$  микробных клеток. В почках со 2 — 21 день обследования кроликов сохранялась постоянная концентрация кишечной палочки с небольшими колебаниями ( $0,8 \pm 0,1 \times 10^2$  —  $9,0 \pm 0,1 \times 10^2$ ).

Ожоговая травма при заражении кроликов некультивируемыми бактериями повлияла на сроки максимальной концентрации *E.coli* во внутренних органах. Кишечную палочку в печени определяли на 4 день болезни кроликов в концентрации  $3,2 \pm 0,4 \times 10^6$  микробных клеток, а в легких на 9 день в концентрации  $2,4 \pm 0,2 \times 10^4$  микробных клеток в одном грамме исследуемой ткани.

Итак, при ожоговой травме, по сравнению с группой животных, которым не была нанесена ожоговая травма, наблюдали более интенсивную репродукцию *E.coli* в более поздние сроки (на 4 и 9 день болезни), что свидетельствует о более выраженном поражении кишечника животных.

Известно, что в процессе роста бактерий в жидкой питательной среде регистрируется лаг-фаза, экспоненциальная, стационарная и фаза «отмирания» бактерий. В стационарной фазе и фазе отмирания выделяется наибольшее количество метаболитов бактерий, препятствующих размножению бактерий. Под влиянием метаболитов бактерий и сигнальной информации бактерий происходит переход бактерий в некультивируемое состояние и их выделение из макроорганизма во внешнюю среду. Нами установлено, во внешней среде бактерии находятся в виде смешанных популяций, состоящих из культивируемых и некультивируемых бактерий, причем концентрация некультивируемых бактерий во много раз превышает концентрацию культивируемых бактерий.

В таком состоянии бактерии находятся во внешней среде до тех пор пока не возникнут условия для перехода некультивируемых бактерий в культивируемое состояние, которое и вызывает инфекционный процесс. В продромальном периоде инфекционного процесса при ожоговой травме создаются благоприятные условия для проникновения некультивируемых бактерий в головной мозг и перехода их в культивируемое состояние. Ориентировочно с 5 дня болезни репродукция бактерий в организме осуществляется в стационарной фазе и в организме поддерживается высокая концентрация метаболитов бактерий, действует сигнальная информация бактерий и бактерии переходят в некультивируемое состояние. Поэтому в этот период патологическое действие, вызванное некультивируемыми бактериями, не проявляется, т.е.

bacteria were observed on days 2–3 post-injury and on days 15–19 days after administration of cultured bacteria *P.aeruginosa* and *S.aureus*.

Cultivable and non-cultivable bacteria in animals caused the alterations of gastrointestinal tract. In the abdomen auscultation recorded no sounds in  $28.6 \pm 12.5\%$  of cases. The animals refused food in  $42.9 \pm 13.7\%$  cases and showed bloating in  $42.9 \pm 13.7\%$  of cases. Marked clinical signs justifies that animals have developed paresis. Obviously, death in these animals was associated with dysfunction of the gastrointestinal tract and damage to internal organs as a result of translocation of *E.coli*. On the histological sections of the intestine hyperemia of submucosa and mucosa of the intestine were observed. After infection of rabbits from the 4<sup>th</sup> group with non-cultivable bacteria *E.coli* bacteria were allocated from the liver in 48 hours at a concentration of  $0.8 \times 10^2 \pm 0.1 \times 10^2$  and remained at similar concentration until day 21. In the lungs *E.coli*, was determined during 5–7 days in an amount of  $1.0 \times 10^3 \pm 0.1 \times 10^3$  microbial cells. In kidneys during 2–21 day of the survey rabbits maintained *E.coli* at a constant concentration with small fluctuations ( $0.8 \times 10^2 \pm 0.1 \times 10^2$  —  $9.0 \times 10^2 \pm 0.1 \times 10^2$ ).

Burn injury of rabbits infected with non-culturable bacteria affected the timing of maximum concentration of *E.coli* in the internal organs. In the liver, *E.coli* were detect on the 4<sup>th</sup> day of disease in an amount of  $3.2 \times 10^6 \pm 0.4 \times 10^6$  microbial cells and in the lungs on day 9 in an amount of  $2.4 \times 10^4 \pm 0.2 \times 10^4$  microbial cells in one gram of the tissue.

Thus, during the burn disease there was an intensive reproduction of *E.coli* (vs. correspondent control group with no burn trauma) at a later date (on days 4–9 of illness) indicating a more severe lesion of the intestines of animals.

It is known that growth of bacteria in a liquid nutrient medium experience lag phase, exponential phase, stationary phase and phase of dying (decay) of bacteria. In the stationary and decay phases the largest number of metabolites of bacteria is allocated preventing the growth of bacteria. Metabolites of bacteria and signal information liberated from bacteria cause the transition of bacteria to non-cultivable state and their allocation into the environment. We noticed that in the environment the bacteria are keeping in the form of mixed populations consisting of cultivable and non-cultivable bacteria, whereas the concentration of non-cultivable bacteria is several times higher than the concentration of cultivable bacteria.

In this state the bacteria are in the environment until the conditions appear to move from non-cultivable state toward cultivable condition that results an infectious process. In the prodromal period of infection in burn patients favorable conditions for the penetration of non-cultivable bacteria in the brain and their transition to a cultivable state are promoted. Approximately beginning from the 5<sup>th</sup> day of illness the



## Infectious complications

создаются условия препятствующие переходу бактерий в культивируемое состояние. В стадии реконвалесценции организм освобождается от возбудителей, их метаболитов, не действует сигнальная информация бактерий и поэтому создаются условия для перехода некультивируемых бактерий в культивируемое состояние. В связи с этим и наблюдается поражение головного мозга у лабораторных животных.

### Заключение

На основании клинических, микробиологических и гистологических исследований установлено влияние ожоговой травмы на развитие инфекционного процесса у кроликов породы «шиншилла», вызванного культивируемыми и некультивируемыми бактериями. При ожоговой травме создаются благоприятные условия для перехода синегнойной палочки из некультивируемого в культивируемое состояние, а также для размножения *P.aeruginosa* во внутренних органах животных, при этом проявляется односторонний антагонизм по отношению к культуре *S.aureus*. На фоне ожоговой травмы в более поздние сроки наблюдается транслокация бактерий из кишечника и более интенсивная репродукция синегнойной палочки, перешедшей из некультивируемого состояния в культивируемое. Выявленные сроки максимальной концентрации бактерий *P.aeruginosa* и *E.coli* во внутренних органах экспериментальных животных дают основание для своевременного планирования этиотропной терапии, направленной на предупреждение развития инфекционного процесса.

### Литература

1. Шабанов А.К., Хубутия М.Ш., Булава Г.В., Белобородова Н.В., Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Косолапов Д.А., Шпитонков М.И. Динамика уровня прокальцитонина при развитии нозокомиальной пневмонии у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой в отделении реанимации. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (5): 11–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-11>
2. Яковлев А.Ю., Гушчина Н.Н., Ниязатов А.А., Зайцев Р.М., Голубцова Е.Ю., Рыбикова М.А. Ранняя оценка эффективности антибактериальной терапии нозокомиальной пневмонии путем количественного определения липополисахарида. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (6): 45–52. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-45>
3. Ушакова Н.Д., Шевченко А.Н., Четвериков М.В., Златник Е.Ю., Зыкова Т.А. Результаты применения селективной адсорбции эндотоксина при сепсисе у онкологических больных. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (6): 32–38. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-32-38>
4. Шабанов А.К., Булава Г.В., Андросова М.В., Кузовлев А.Н., Кислухина Е.В., Хубутия М.Ш. Роль ранней иммунозаместительной терапии в снижении частоты развития нозокомиальной пневмонии у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (6): 15–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-15-23>
5. Волянский Ю.Л. Некультурабельное состояние асперогенных бактерий: теоретические аспекты проблемы и ее практическая значимость. *Инфекционные болезни (Украина)*. 2004; 1: 5–9.
6. Соколенко А.В. Некультивируемые формы бактерий: распространение в природе, индукторы некультивируемого состояния и реверсии. *Соврем. наукоемкие технологии*. 2006; 2: 11–15.
7. Heim S., Lleo M., Bonato B., Guzman C.A., Canepari P. The viable but nonculturable state and starvation are different stress responses of

reproduction of bacteria in the organism is keeping in a stationary phase and in the body this state is supported by the high concentration of metabolites of bacteria, the signaling information begins to act and bacteria transits toward non-cultivable state. Therefore, during this period the pathological action caused by non-cultivable bacteria does not exist, i.e., the existed conditions prevent the transition of «dormant» bacteria to cultivable state. At a convalescence stage the body is released from agents and their metabolites, signaling information from bacteria does not act that create conditions for the transition of non-cultivable bacteria to cultivable state. Because of these alterations the brain damage in laboratory animals becomes evident.

### Conclusion

Based on clinical, microbiological and histological studies the effect of burn disease on the development of infectious process in chinchilla rabbits caused by cultivable and non-cultivable bacteria was established. In burn disease conditions that favor transition of *E.coli* from non-cultivable to cultivable condition are developing beneficial for reproduction of *P.aeruginosa* in internal organs of animals. Under these conditions, a unilateral antagonism vs. *S.aureus* was observed. Following induction of burn disease in later periods the translocation of bacteria from the gut and more intensive reproduction of *E.coli* transited from an uncultivable state to cultivable state became evident. Identification of periods associated with maximum accumulation of bacteria *P.aeruginosa* and *E.coli* in the internal organs provide the basis for timely planning of etiotropic therapy to prevent developing the infectious process in experimental setting.

### References

1. Shabanov A.K., Khubutia M.Sh., Bulava G.V., Beloborodova N.V., Kuzovlev A.N., Grebenchikov O.A., Kosolapov D.A., Shpitonkov M.I. Dinamika urovnya prokaltsitonina pri razvitii nozokomialnoi pnevmonii u postradavshikh s tyazheloi sochetannoi travmoi v otdelenii reanimatsii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Time course of changes in the level of procalcitonin in the development of nosocomial pneumonia in victims with severe concomitant injury in an intensive care unit. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (5): 11–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-11>. [In Russ.]
2. Yakovlev A.Yu., Gushchina N.N., Niyazmatov A.A., Zaitsev R.M., Golubtsova E.Yu., Ryabikova M.A. Rannaya otsenka effektivnosti antibakterialnoi terapii nozokomialnoi pnevmonii putem kolichestvennogo opredeleniya lipopolisakharida. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Early evaluation of the efficiency of antibiotic therapy for nosocomial pneumonia by quantifying lipopolysaccharide. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (6): 45–52. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-45>. [In Russ.]
3. Ushakova N.D., Shevchenko A.N., Chetverikov M.V., Zlatnik E.Yu., Zyкова Т.А. Rezultaty primeneniya selektivnoi adsorbtsii endotoksina pri sepsise u onkologicheskikh bolnykh. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Results of using selective endotoxin adsorption in cancer patients with sepsis. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (6): 32–38. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-32-38>. [In Russ.]
4. Shabanov A.K., Bulava G.V., Androsova M.V., Kuzovlev A.N., Kisluhkina E.V., Khubutia M.Sh. Rol rannei immunozaemestitel'noi terapii v snizhenii chastoty razvitiya nozokomialnoi pnevmonii u postradavshikh s tyazheloi sochetannoi travmoi. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Role of early immune replacement therapy in reducing the rate of nosocomial pneumonia in severe polytrauma. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (6): 15–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-15-23>. [In Russ.]



- Enterococcus faecalis, as determined by proteome analysis. *J. Bacteriol.* 2002; 184 (23): 6739–6745. <http://dx.doi.org/10.1128/JB.184.23.6739-6745.2002>. PMID: 12426365
8. Binsztejn N., Costagliola M.C., Pichel M., Jurquiza V., Ramírez F.C., Akseman R., Vaccino M., Huq A., Colwell R.R. Viable but nonculturable Vibrio cholerae O1 in the aquatic environment of Argentina. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70 (12): 7481–7486. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03468.x>. PMID: 15574951
  9. Тафельштейн Э.А., Голубинский Е.П., Марамович А.С., Урбанович Л.Я., Буренина Л.Ф., Миронова Л.В., Сатто С.Г., Марков Е.Ю., Капустин Ю.М., Белобородов Ю.В. Экспериментальное получение некультивируемых форм *Vibrio cholerae* eltor и характеристика их биологических свойств. *Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол.* 2004; 1: 13–18. PMID: 15024974
  10. Соколенко А.В., Меньшикова Е.А., Асеева Л.Е., Миронова А.В., Титова С.В. Окислительный стресс как причина образования некультивируемых форм *Vibrio cholerae*. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2006; 1 (91): 45–49.
  11. Mizuno Y., Wai S.N., Ishikawa T., Takade A., Yoshida S. Resuscitation of viable but nonculturable cells of *Vibrio parahaemolyticus* induced at low temperature under starvation. *FEMS Microbiol. Lett.* 2000; 186 (1): 115–120. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09091.x>. PMID: 10779722
  12. Шлеева М.О., Мукамолова Г.В., Телков М.В., Берензинская Т.Л., Сыроешкин А.В., Бикетов С.Ф., Капрельянц А.С. Образование «некультивируемых» клеток *Micobacterium tuberculosis* и их оживление. *Микробиология.* 2003; 72 (1): 76–83. PMID: 12698796
  13. Романова Л.В., Мишанькин Б.Н., Пичурин Н.Л., Водопьянов С.О., Саямов С.Р. Некультивируемые формы *Francisella tularensis*. *Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол.* 2000; 2: 11–15. PMID: 10808564
  14. Steinert M., Emödy L., Amann R., Hacker J. Resuscitation of viable but nonculturable *Legionella pneumophila* Philadelphia JR32 by *Acanthamoeba castellanii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997; 63 (5): 2047–2053. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00131-12>. PMID: 9143134
  15. Четина Е.В. Влияние некоторых физиологических и генетических факторов на процесс перехода энтеротоксигенных штаммов *Escherichia coli* в некультивируемое состояние. *Мол. генетика, микробиол., вирусол.* 1997; 1: 8–14. PMID: 9082186
  16. Makino S.I., Kii T., Asakura H., Shirahata T., Ikeda T., Takeshi K., Itoh K. Does enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 enter the viable but nonculturable state in salted salmon roe? *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66 (12): 5536–5539. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.66.12.5536-5539.2000>. PMID: 11097946
  17. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Яковлев В.П. Ожоговая инфекция. Этиология, патогенез, диагностика и лечение. М.: Вузовская книга; 2010: 416.
  18. Баиров Г.А. Детская травматология. СПб.: Питер; 2000: 384.
  19. Баранов А.А. Неонатология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009: 848.
  20. Ортенберг Э.А., Ковалева Н.А., Христенко Я.В., Кирушок Г.И., Хохлявин Р.Л. Стафилококковая инфекция в многопрофильном стационаре: характер и резервы оптимизации антибактериальной терапии. *Мед. наука и образование Урала.* 2014; 15 (1) (77): 120–124.
  21. Иванов В.В., Сахаров С.П., Поляков А.П. Термическая травма у детей – как социально-экономическая проблема. *Мед. наука и образование Урала.* 2010; 11 (2-2) (62): 32–33.
  22. Разина А.В. Общая анестезия кроликов. В кн.: Ветеринарная медицина. Казань: 2007; 4: 140–142.
  23. Хоулт Дж., Криг Н. Определитель бактерий Берджи. М.: Мир; 1997; 1: 432; 2: 368.
  24. Козлов Л.Б., Диц Е.В., Ефимов В.В., Санников А.Г., Бутков И.И., Козлов А.Л. Способ выделения некультивируемых бактерий стафилококка. Патент РФ на изобретение №2470074.
  25. Козлов Л.Б., Ефимов В.В., Диц Е.В., Санников А.Г., Бутков И.И., Козлов А.Л. Хладотермостат для выделения некультивируемых бактерий. Патент РФ на изобретение №125888.
  26. Козлов Л.Б., Сахаров С.П., Диц Е.В., Ефимов В.В., Ванбендер Е.Л., Бутков И.И., Козлов А.Л., Сенникова Е.С., Тусупбекова И.Н., Безносоев Е.В., Сахарова С.В. Устройство для проведения экспериментов на кроликах. Патент РФ на изобретение №132314.
  27. Хрулев С.Е., Воробьев А.В., Белова А.Н. Поражения головного мозга при термической травме: особенности клинической картины и факторы риска. *Травматология и ортопедия России.* 2007; 3 (45): 31–35.
  28. Хрулев С.Е. Уровень нейрон-специфической енолазы в сыворотке крови больных с ожоговой травмой. *Соверм. наукоемкие технологии.* 2009; 6: 53–54.
  29. Хрулев С.Е. Клинико-компьютерно-томографические корреляции энцефалопатии у детей с ожоговой травмой. *Мед. визуализация. Спец. выпуск.* 2009: 457–458.
  30. Volyansky Yu.L. Nekulturable sostoyaniye asporogennykh bakterii: teoreticheskie aspekty problemy i ee prakticheskiye znachimost. [Nonculturable state of asporogenous bacteria: theoretical aspects of the problem and its practical significance]. *Infektsionnye Bolezni (Ukraina).* 2004; 1: 5–9. [In Russ.]
  31. Sokolenko A.V. Nekultiviruemye formy bakterii: rasprostraneniye v prirode, induktory nekultiviruемого sostoyaniya i reversii. [Non-cultured bacteria: Spread in nature, inducers of a non-cultured state and reversion]. *Sovremennye Naukoemkie Tekhnologii.* 2006; 2: 11–15. [In Russ.]
  32. Heim S., Leo M., Bonato B., Guzman C.A., Canepari P. The viable but nonculturable state and starvation are different stress responses of *Enterococcus faecalis*, as determined by proteome analysis. *J. Bacteriol.* 2002; 184 (23): 6739–6745. <http://dx.doi.org/10.1128/JB.184.23.6739-6745.2002>. PMID: 12426365
  33. Binsztejn N., Costagliola M.C., Pichel M., Jurquiza V., Ramírez F.C., Akseman R., Vaccino M., Huq A., Colwell R.R. Viable but nonculturable *Vibrio cholerae* O1 in the aquatic environment of Argentina. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70 (12): 7481–7486. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03468.x>. PMID: 15574951
  34. Tafelshstein E.A., Golubinsky E.P., Maramovich A.S., Urbanovich L.Ya., Burenina L.F., Mironova L.V., Sappo S.G., Markov E.Yu., Kapustin Yu.M., Beloborodov Yu.V. Eksperimentalnoye polucheniye nekultiviruemykh form *Vibrio cholerae* eltor i kharakteristika ikh biologicheskikh svoystv. [Experimental non-culturable *Vibrio cholerae* eltor and its biological properties]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii.* 2004; 1: 13–18. PMID: 15024974. [In Russ.]
  35. Sokolenko A.V., Menshikova E.A., Aseyeva L.E., Mironova A.V., Titova S.V. Okislitelnyi stress kak prichina obrazovaniya nekultiviruemykh form *Vibrio cholerae*. [The oxidation stress as a cause of origination of non-culturable *Vibrio cholerae* forms]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii.* 2006; 1 (91): 45–49. [In Russ.]
  36. Mizuno Y., Wai S.N., Ishikawa T., Takade A., Yoshida S. Resuscitation of viable but nonculturable cells of *Vibrio parahaemolyticus* induced at low temperature under starvation. *FEMS Microbiol. Lett.* 2000; 186 (1): 115–120. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09091.x>. PMID: 10779722
  37. Shleyeva M.O., Mukamolova G.V., Telkov M.V., Berenzinskaya T.L., Syroeshkin A.V., Biketov S.F., Kaprelyants A.S. Obrazovanie «nekultiviruemykh» kletok *Micobacterium tuberculosis* i ikh ozhivleniye. [Formation of nonculturable *Mycobacterium tuberculosis* and their regeneration]. *Mikrobiologiya.* 2003; 72 (1): 76–83. PMID: 12698796. [In Russ.]
  38. Romanova L.V., Mishankin B.N., Pichurina N.L., Vodopyanov S.O., Sayamov S.R. Nekultiviruemye formy *Francisella tularensis*. [Noncultivable forms of *Francisella tularensis*]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii.* 2000; 2: 11–15. PMID: 10808564. [In Russ.]
  39. Steinert M., Emödy L., Amann R., Hacker J. Resuscitation of viable but nonculturable *Legionella pneumophila* Philadelphia JR32 by *Acanthamoeba castellanii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997; 63 (5): 2047–2053. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00131-12>. PMID: 9143134
  40. Chetina E.V. Vliyaniye nekotorykh fiziologicheskikh i geneticheskikh faktorov na protsess perekhoda enterotoksigennykh shtammov *Escherichia coli* v nekultiviruемое sostoyaniye. [The effect of various physiological and genetic factors on the transition process of enterotoxigenic strains of *Escherichia coli* into uncultured state]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya.* 1997; 1: 8–14. PMID: 9082186. [In Russ.]
  41. Makino S.I., Kii T., Asakura H., Shirahata T., Ikeda T., Takeshi K., Itoh K. Does enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 enter the viable but nonculturable state in salted salmon roe? *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66 (12): 5536–5539. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.66.12.5536-5539.2000>. PMID: 11097946
  42. Alekseyev A.A., Krutikov M.G., Yakovlev V.P. Ozhogovaya infektsiya. Etiologiya, patogenezi, diagnostika i lecheniye. [Burn infection. Etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment]. Moscow: Vuzovskaya Kniga; 2010: 416. [In Russ.]
  43. Bairov G.A. Detskaya travmatologiya. [Pediatric traumatology]. Sankt-Peterburg: Piter; 2000: 384. [In Russ.]
  44. Baranov A.A. Neonatologiya. Natsionalnoye rukovodstvo. [Neonatology. National leadership]. Moscow: GEOTAR-Media; 2009: 848. [In Russ.]
  45. Ortenberg E.A., Kovaleva N.A., Khristenko Ya.V., Kirushok G.I., Khokhlyavin R.L. Stafylokokkovaya infektsiya v mnogoprofilnom statSIONARE: kharakter i rezervy optimizatsii antibakterialnoi terapii. [Staphylococcal infection in multiprofiling hospital: clinical patterns and therapy optimization opportunities]. *Meditsinskaya Nauka i Obrazovanie Urala.* 2014; 15 (1) (77): 120–124. [In Russ.]
  46. Ivanov V.V., Sakharov S.P., Polyakov A.P. Termicheskaya travma u detei – kak sotsialno-ekonomicheskaya problema. [Thermal trauma in children – as social and economic problem]. *Meditsinskaya Nauka i Obrazovanie Urala.* 2010; 11 (2–2) (62): 32–33. [In Russ.]

Поступила 16.04.15

## Infectious complications

22. Razina A.V. Obshchaya anesteziya krolikov. V kn.: Veterinarnaya meditsina. [General anesthesia of rabbits. In: Veterinary medicine]. Kazan: 2007; 4: 140–142. [In Russ.]
23. Holt J., Krieg N.R. Opredelitel bakterii Berdzhii. [Bergey's Manual of Systematic Bacteriology]. Moscow: Mir; 1997; 1: 432; 2: 368. [In Russ.]
24. Kozlov L.B., Dits E.V., Efimov V.V., Sannikov A.G., Butkov I.I., Kozlov A.L. Sposob vydeleniya nekultiviruemykh bakterii stafilokokka. Patent RF na izobretenie №2470074. [Procedure for isolation of non-cultured Staphylococcus bacteria. RF Patent for invention No.2470074]. [In Russ.]
25. Kozlov L.B., Efimov V.V., Dits E.V., Sannikov A.G., Butkov I.I., Kozlov A.L. Khladotermostat dlya vydeleniya nekultiviruemykh bakterii. Patent RF na izobretenie №125888. [Refrigerated heating circulator for isolation of non-cultured bacteria. RF Patent for invention No.125888]. [In Russ.]
26. Kozlov L.B., Sakharov S.P., Dits E.V., Efimov V.V., Vanbender E.L., Butkov I.I., Kozlov A.L., Sennikova E.S., Tusupbekova I.N., Beznosov E.V., Sakharova S.V. Ustroystvo dlya provedeniya eksperimentov na krolikakh. Patent RF na izobretenie №132314. [A device for experiments on rabbits. RF Patent for invention No.132314]. [In Russ.]
27. Khrulev S.E., Vorobyev A.V., Belova A.N. Porazheniya golovnoy mozga pri termicheskoy travme: osobennosti klinicheskoy kartiny i factory riska. [Brain lesions in thermal injury: clinical features and risk factors]. *Traumatalogiya i Ortopediya Rossii*. 2007; 3 (45): 31–35. [In Russ.]
28. Khrulev S.E. Uroven neiron-spetsificheskoy enolazy v syvorotke krovi bolnykh s ozhogovoy travmoy. [The level of neuron-specific enolase in the serum of patients with burn injury]. *Sovremennye Naukoemkie Tekhnologii*. 2009; 6: 53–54. [In Russ.]
29. Khrulev S.E. Kliniko-kompyuterno-tomograficheskie korrelyatsii entsefalopatii u detei s ozhogovoy travmoy. [Clinical-computed tomographic correlations of encephalopathy in children with burn injury]. *Meditsinskaya Vizualizatsiya. Spetsialnyi Vypusk*. 2009; 457–458. [In Russ.]

Submitted 16.04.15

19–20 ноября 2015 г.  
Россия, Москва



# XVII ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЕ  
ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

### ВО ВРЕМЯ КОНФЕРЕНЦИЙ ПЛАНИРУЕТСЯ ОБСУДИТЬ ПРОБЛЕМЫ:

- Травма и кровопотеря.
- Острая дыхательная недостаточность. ИВЛ.
- Острые расстройства гемодинамики.
- Структурно-функциональные изменения ЦНС при критических состояниях.
- Инфекционные осложнения в реаниматологии.
- Экстракорпоральные методы в реаниматологии.
- Анестезиология-реаниматология в специализированных областях хирургии.
- Экспериментальные исследования в анестезиологии-реаниматологии.

### Планируется проведение спутниковых симпозиумов и совместных заседаний с медицинскими научными обществами:

- Обществом по изучению шока (Россия).
- Национальным советом по реанимации (обсуждение новых рекомендаций по сердечно-легочной реанимации Европейского совета по реанимации, 2015).

Подробная информация на сайте мероприятия:  
[www.spasti-zhizn.ru](http://www.spasti-zhizn.ru)

Вопросы, связанные с научной программой конференции:  
Научно-организационный отдел ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
общей реаниматологии имени В.А. Неговского»

Тел./факс: +7 (495) 650 96 77  
E-mail: [niiorramn@niiorramn.ru](mailto:niiorramn@niiorramn.ru), [or\\_org@mail.ru](mailto:or_org@mail.ru)

По всем вопросам Вы можете обращаться:



Федосова Анастасия  
+7 (495) 960 21 90, доб. 146  
E-mail: [afedosova@ctogroup.ru](mailto:afedosova@ctogroup.ru)