



УКРАЇНА

(19) UA (11) 17953 (13) U  
(51) МПК  
G09B 23/28 (2006.01)  
G09B 23/24 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОГО АБСЦЕСУ ЛЕГЕНЬ

1

(21) u200604695  
(22) 27.04.2006  
(24) 16.10.2006  
(46) 16.10.2006, Бюл. №10, 2006р.  
(72) Бойко Валерій Володимирович, Мінухін Дмитро Валерійович  
(73) ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
(57) Спосіб моделювання гострого абсцесу легень, що включає безпосереднє введення в тканину

2

легені експериментальної тварини шляхом ін'єкції в проекції V-VI міжребер'я інфекційного агенту, з наступним виведенням тварини з експерименту, який відрізняється тим, що тварину попередньо охолоджують при температурі навколишнього середовища +4 градуси за Цельсієм протягом 30 хвилин в умовах відносної вологості повітря до 75%.

Корисна модель відноситься до експериментальної медицини і біології та може бути використана, як модель гострого абсцесу легень для відпрацювання нових схем та методів лікування цієї патології.

Відомі моделі експериментального гострого абсцесу легень (ГАЛ), які використовуються в медичній науці, не завжди відображають етіологію та патогенез ГАЛ, що виникають у реальних умовах.

Так, наприклад, відома модель [Нарычев А.А. «Метод получения экспериментального легочного нагноения»// Арх.пат.-1953.-№3.-С.66-70], у якій лабораторним тваринам у просвіт попередньо перев'язаного бронху вводили інфікований матеріал або після перев'язки бронху інфікований ембол вводили до судин малого кола кровообігу. Інфікований ембол готують за наступною методикою [Чирейкин В.Х. «Острые экспериментальные легочные нагноения»// Арх.пат.-1959.-№3.-С.64-70]: фрагмент крупної вени тварини заповнюють мокротинням від хворого на абсцес чи гангрену легень. Для локалізації ембола у легеневій тканині до нього додають 10% полівініловий спирт. Гострий абсцес легень виникає при використанні такої моделі у 50% тварин та закінчується самоодужанням через 11-15 діб.

Також існує модель експериментального гострого бактеріального абсцесу легень у собаки [Чирейкин В.Х. «Острые экспериментальные легочные нагноения» // Арх. пат. - 1959. - №3. - С.64-70]): легенева нагноєння викликається введенням інфекту у кровеносне русло. У якості ембола вико-

ристовують видалений фрагмент стегнової або яремної вени довжиною 6-8см, наповнений свіжо-зібраним мокротинням від хворого на абсцес чи гангрену легень та перев'язаний на кінцях. Ембол вводили до правої яремної вени та за допомогою шприцу з фізіологічним розчином проштовхували в напрямку до серця. Рентгенологічне дослідження показало, що вже протягом першої години після введення емболу до вени він попадає до одного з розгалужень легеневої артерії. На 4-6 добу в легеневій тканині визначалась порожнина, а з 9-11 доби починався зворотній спонтанний розвиток захворювання, який продовжувався 15-20 діб. Гострий абсцес легень при використанні такої моделі виникає у 65% тварин, в інших випадках виникала гангрена легень.

До останнього часу найбільшого використання набула модель [Чачибая Г.Ш. «Влияние стафилококкового фага на ультраструктуру респираторного эпителия при экспериментальном абсцессе легкого»// Сообщ. АН ГССР." 1981.-Т.102. №1.-С.185-188], де кроликам безпосередньо у тканину легень шляхом ін'єкції на рівні VII-VIII міжребер'я вводили мокроту від хворих на абсцес та гангрену легень. Гострий абсцес легень при використанні такої моделі виникає у 50% тварин та закінчується самоодужанням через 11-15 діб.

Вказаний метод є найближчим за технічною суттю та результатами, які можуть бути досягнуті, у порівнянні з тими, що заявлені нами. Тому ми його обираємо за прототип.

(13) U

(11) 17953

(19) UA

Відомим аналогам, у тому числі і прототипу, характерні вагомні недоліки: 1. низька ефективність відтворення ГАЛ (50-65%), така частота відтворення гострого абсцесу легень не дозволяє використовувати модель-прототип для обробки нових схем лікування; 2. замале приближення до реального перебігу гострих абсцесів легень, у реальних умовах гострий абсцес легень ніколи не закінчується самоодужанням; 3. не враховано вплив фактору переохолодження на резистентність організму.

Таким чином, враховуючи усе вище вказане, в основу корисної моделі покладено задачу: підвищення точності та ефективності моделювання гострого абсцесу легень.

Задачу вирішують тим, що у відомому способі моделювання ГАЛ, що включає у себе безпосереднє введення у тканину легень тварини шляхом ін'єкції у проекції V-VI міжребер'я інфекційного агента, з наступним виведенням тварини з експерименту, згідно корисної моделі, тварину попередньо охолоджують при температурі +4 градуси за Цельсієм в умовах підвищеної до 75% вологості повітря.

Позитивний ефект моделі, що заявляється, полягає у тому, що вона дозволяє приблизити експериментальне інфікування до реальних умов виникнення (відтворена гіпотермія та підвищена вологість повітря) та перебігу захворювання, виключає вплив штучних агентів запалення, дає вірогідну клінічну картину захворювання та достатньо проста у відтворенні.

Етапи моделювання. Експериментальну тварину охолоджують при температурі +4 градуси за Цельсієм в умовах підвищеної до 75% вологості повітря протягом 30 хвилин. Вводять безпосередньо в тканину легень тварини шляхом ін'єкції у проекції V-VI міжребер'я інфекційний агент. Виводять тварину з експерименту.

Ефективність моделі, що заявляється, підтверджена експериментально.

Моделювання виконують таким чином:

Беруть морських свинок вагою 450-500гр, обох статей, які знаходяться у стандартних умовах лабораторного утримання та раціону травлення. Експеримент проводять протягом 14 діб.

Усі тварини були розділені на дві групи: контрольну (n=20) та експериментальну (n=20).

Тваринам контрольної групи ін'єкційне в проекції V-VI міжребер'я справа вводять 1,5мл стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію.

Експериментальних тварин за 30 хвилин до інфікування розташовують в камері з відносною вологістю повітря 75% та температурою +4 градуси за Цельсієм.

В експериментальній групі тварин інфікування проводять шляхом ін'єкційного введення 1,5мл мільярдної завису добової агарової культури *S.aureus* (штам ATCC 25923) у проекції V-VI міжребер'я за допомогою стерильного шприцу для ін'єкцій в умовах строгої асептики.

Тварин виводять з експерименту на 14 добу.

Усі маніпуляції, що могли викликати біль, проводилися згідно до Хельсинської декларації про гуманне відношення до тварин.

Розрахунок LD<sub>50</sub> при вказаному методі інфікування проводять за формулою Ашмарина І.П. та Воробьєва А.А. (1962).

У тварин роблять кількісний висів мікроорганізмів із легень, для цього уражену легеню зважують, після чого 1г легеневої тканини, взятий із зони некрозу, розтирають у ступці зі стерильним піском та 5мл 0,85% розчину NaCl.

При висівах мікроорганізмів на м'ясо-пептонний агар виділяли *S.aureus* у кількості  $4 \times 10^9 - 8 \times 10^9$  КОЕ/мл по культуральним та біохімічним властивостям ідентичні взятому для інфікування.

Легені також досліджують морфологічно, макрота і мікроскопічно.

При макроскопічному дослідженні уражена легеня містить одиничні порожнини деструкції з виразним перифокальним запальним валом.

Тканину легень для морфологічного дослідження фіксують у 10% нейтральному формаліні, дегідратують, заливають целоїдин-парафіном, забарвлюють гематоксиліном та еозином. На підставі цього виявляють типові ознаки гострого абсцесу легень, що характеризується наступною картиною. В мікроскопічних препаратах легень відмічають вогнище деструкції, де спостерігається скупчення збудника, некротичні рештки клітин та міжальвеолярних перетинок, гнійний ексудат, навколо ділянки некрозу тонкостінна сполучнотканинна капсула, інфільтрована лейкоцитами і нейтрофілами.

Результати обробляють за допомогою параметричних та непараметричних критеріїв.

Ефективність моделі ілюструє наступний приклад.

Приклад. Морська свинка-самка вагою 450г, яка знаходилась в стандартних умовах лабораторного утримання та раціону травлення.

Попередньо тварину тримають у камері, де температура повітря становила +4 градуси за Цельсієм, а відносна вологість повітря 75%, протягом 30 хвилин. В умовах ефірного наркозу пункційно трансплеврально в проекції V-VI міжребер'я справа вводять 1,5мл мільярдної завису добової агарової культури *S.aureus* (штам ATCC 25923) у кількості  $4 \times 10^9 - 8 \times 10^9$  КОЕ/мл. Морську свинку виводять з експерименту на 14-ту добу після інфікування.

Для встановлення існування гострого абсцесу легень мікробіологічному та гістологічному дослідженню була піддана права легеня тварини.

Для підтвердження ідентичності мікроорганізмів, що були використані для інфікування та виділених з легень експериментально інфікованої тварини, вивчаються їх біологічні властивості.

Досліджують посіви з попожнини деструкції на м'ясо-пептонному агарі та виділяють *S.aureus* у кількості  $4 \times 10^9 - 8 \times 10^9$  КОЕ/мл. Було встановлено, що по морфологічним, культуральним та біохімічним властивостям виділений від експериментальної тварини штам ідентичний взятому для інфікування.

Права легеня також була досліджена морфологічно.

Цитологічну оцінку ураження легеневої тканини проводять мікроскопією забарвлених по Романовському мазків, де були знайдені скупчення

стафілококу у вогнищі деструкції та у сусідніх альвеолярних структурах, некротичні залишки клітин і міжальвеолярних перетинок, гнійний ексудат, навколо ділянки некрозу тонкостінна сполучнотканнна капсула, інфільтрована лейкоцитами та нейтрофілами. В альвеолах, розташованих більш периферично, переважно зустрічалася фібринозна ексудація.

Для гістологічного дослідження використовують парафінові зрізи тканини ураженої легені товщиною 5мкм, забарвлені гематоксиліном та еозинном.

Гістологічне у легеневій тканині виявлена порожнина деструкції, яка має тонкостінну сполучнотканнну капсулу, інфільтровану лейкоцитами та нейтрофілами. У тканинах навколо вогнища деструкції виявлено повнокрів'я, стазикововиливи у стінку альвеол, лейкоцитарний ексудат, локалізований у порожнині деструкції та у навколишніх бронхіолах та альвеолах, що заповнені фібрином та нейтрофілами. По периферії знаходиться зона серозного набряку.

На підставі отриманих даних можна стверджувати про наявність у цієї тварини гострого абсцесу легень, викликаного *S.aureus*.