



Создание модели стрептококковой раневой инфекции у лабораторных мышей линии *BALB/c* и крыс Wistar путем внутрикожной инъекции

Т.И. Комбарова, Т.И. Рудницкая, Н.С. Грищенко, Е.А. Ганина,
А.А. Котова, В.В. Кузин, В.Д. Потапов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»,
Московская область

Контактная информация: Котова Анастасия Андреевна, frau kotova@mail.ru

Целью данной работы явилось создание с последующим исследованием раневой стрептококковой инфекционной модели, вызванной подкожным введением бактерий штамма *Streptococcus pyogenes* Dick-1 мышам линии *BALB/c* и крысам Wistar. Установлено, что масса тела и обсемененность органов животных при заражении культурой *S. pyogenes* Dick-1 являются одним из основных показателей физиологического состояния организма животного. Данные гистологического анализа подтверждают, что при внутрикожном заражении стрептококком происходит поражение эпидермиса и дермы с генерализацией патологического процесса в паренхиматозных органах (легких, селезенки, печени, почек). В ходе наблюдений за инфекционным процессом отмечалось значительное снижение обсемененности раневой поверхности у мышей к концу эксперимента, на 21-е сутки высевались единичные колонии. Анализ результатов показал, что распространение инфекции у мышей начинается с поражения легких, с 7-х суток происходит генерализация инфекции с проникновением в другие паренхиматозные органы. Смывы с раневой поверхности у крыс, напротив, показали значительную колонизацию кокками. Локализация очага инфекции происходила в легких, состояние других паренхиматозных органов оставалось в пределах нормы.

Ключевые слова: биомодель, раневая инфекция, внутрикожная инъекция, штамм *S. pyogenes* Dick-1, крысы, мыши.

Введение

Среди 18-ти видов и 8-ми родственных групп бактерий, причисленных к важнейшим патогенам человека, особую роль играют стрептококки [2]. Они впервые были обнаружены в тканях человека при рожистом воспалении и раневых инфекциях в 1984 г. Т. Биль-

ротом [8]. Род *Streptococcus* (семейство *Streptococcaceae*) включает в себя грамположительные, неподвижные, неспорообразующие, каталазо- и оксидазоотрицательные кокки, являющиеся факультативными анаэробами [7]. К факторам вирулентности микроорганизма относятся капсула из гиалуро-

новой кислоты, окружающая клетку микроорганизма, поверхностные белки (М-белок, F-белок, фактор апалесценции, стрептолизин S, стрептокиназа, С5а-пептидаза) и продукты, секретируемые в окружающую среду (стрептолизин О, гиалуронидаза, НАДаза, пирогенные экзотоксины) [7].

По медицинской значимости стрептококки занимают второе место после стафилококков [9]. Из числа стрептококков, патогенных для человека, с середины 80-х гг. XX столетия во многих странах мира наблюдается рост заболеваемости, обусловленной β -гемолитическими (вызывающими полный гемолиз) стрептококками группы А (БГСА, *S. pyogenes*) [11]. Заболевания, вызываемые стрептококковой флорой, проявляются в виде поражения дыхательных путей, кожных покровов и т.д. Вероятность возникновения гнойных осложнений при инфицировании стрептококками высока у лиц с ожогами, ранениями, беременных, новорожденных, больных после операций. Стрептококковые инфекции опасны склонностью к развитию постинфекционных осложнений со стороны различных органов и систем.

Изучение данной проблемы является актуальным, т.к. четкое понимание течения воспалительного процесса, вызванного стрептококковой инфекцией у животных, даст возможность разрабатывать более эффективные терапевтические препараты, применяемые при лечении данной инфекции у людей.

Целью данной работы явилось создание с последующим исследованием раневой стрептококковой инфекционной модели, вызванной подкожным вве-

дением бактерий штамма *Streptococcus pyogenes* Dick-1 мышам и крысам.

Задача исследования – изучить модели раневой стрептококковой инфекции с генерализацией процессов в паренхиматозных органах, вызванной референс-штаммом *Streptococcus pyogenes* Dick-1 у мышей линии *BALB/c* и у крыс Wistar, для скрининга основных принципов отбора новых лекарственных средств.

Материалы и методы

Микробиологические методы. В работе использовали штамм *S. pyogenes* Dick-1, полученный из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk». Для культивирования этого штамма применяли неселективные плотные питательные среды, инкубацию проводили при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24-48 ч. Для получения суточной культуры стрептококка использовали плотную питательную среду, мясо-пептонный агар (МПА) серии 130 (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия) с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота (КРС) серии Б-15-01S. Проверяли на отсутствие посторонней микрофлоры с помощью световой микроскопии, далее отбирали несколько однотипных, четко изолированных колоний, петлей переносили материал с верхушек колоний в пробирку со стерильным физиологическим раствором, доводили плотность инокулюма до 3 ед. по стандарту мутности Мак-Фарланда, что соответствует содержанию клеток $1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл. Для подтверждения концентрации клеток в заражающей дозе делали высеив на плотные питательные среды – МПА с добавлением 10% сыворотки КРС серии Б-15-01S.

Лабораторные животные. Инбредные самки мышей линии *BALB/c* массой 18-20 г в возрасте 8-10 недель и аутбредные самки крыс *Wistar* массой 250-270 г в возрасте 10-12 недель были получены из питомника лабораторных животных «Андреевка» (филиал ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская обл.). Сертификат серии 1-3,27 № 03863 от 10.09.2015 г. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных [6], согласно ветеринарному протоколу № 3-2015, утвержденному комиссией по биоэтике ФБУН ГНЦ ПМБ. Животные соответствовали категории конвенциональных, их содержали в микроизоляторах (по 5 мышей и по 3 крысы) в контролируемых условиях окружающей среды (температура воздуха 20-24°C, относительная влажность 35-40%, освещение в помещениях – искусственное, с фиксированным режимом день-ночь). В качестве подстила использовали древесные опилки нехвойных пород, в качестве корма – стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ 50258-92 производства ООО «Лабораторкорм». Водопроводная вода всем животным давалась в стандартных поилках. Животные потребляли корм и воду *ad libitum*.

Моделирование стрептококковой инфекции в кожно-мышечной ране. На левом боку мышей и крыс за сутки до заражения проводили удаление волосяного покрова машинкой для стрижки (GC545, Италия) на пло-

щади 1,5×1,5 см у мышей и 3×3 см у крыс. Инсулиновым шприцем мышам внутривенно вводили 0,1 мл суспензии клеток суточной культуры штамма *S. pyogenes* Dick-1 в двух дозах: $1,0 \times 10^8$ и $1,0 \times 10^9$ КОЕ/животное. Для создания кожно-мышечной раны у крыс использовали заражающую дозу $4,0 \times 10^9$ КОЕ/животное. Введение осуществляли путем одновременных внутривенных инъекций заражающей суспензией в объеме 0,3 мл в две точки, расположенные на расстоянии 2 мм друг от друга, и подкожной инъекцией в объеме 0,1 мл суспензии клеток суточной культуры штамма *S. pyogenes* Dick-1.

Определение массы тела мышей после заражения. Взвешивание мышей проводили ежедневно в одно и то же время на весах ACCULFB V1-240 (США) с точностью до 0,1 г.

Определение бактериальной нагрузки на раневую поверхность. Проводили бактериологическое исследование смывов с поверхности раны. Для приготовления смыва в пробирку со стерильным ватным тампоном наливали 1 мл стерильного физ. раствора так, чтобы тампон находился над уровнем жидкости. Непосредственно перед взятием смыва увлажняли тампон, производили им концентрический смыв с площади 1 см² раневой поверхности и отмывали тампон в 1 мл физ. раствора, получая исходное разведение. Готовили ряд 10-кратных разведений и высевали по 0,1 мл на чашки с плотной питательной средой.

Определение бактериальной нагрузки в органах животных. Для определения показателя КОЕ в органах мы-

шей органы-мишени гомогенизировали в стерильных ступках, добавляя 1 мл забуференного физ. раствора на один орган мышей и 5 мл – на один орган крыс, и высевали гомогенат методом 10-кратных разведений в забуференном физ. растворе на плотную питательную среду - № 1 ГРМ с добавлением 10% КРС. Для этого на поверхность среды в чашку Петри наносили 0,1 мл суспензии соответствующего разведения и тщательно растирали шпателем. Засеянные чашки инкубировали в термостате при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24-48 ч. Подтверждение специфичности выросших колоний осуществляли с помощью окрашивания мазков по Граму с использованием световой микроскопии. Расчет КОЕ проводили методом подсчета колоний в соответствующем разведении. Экспериментальную погрешность определяли для каждого ряда из пяти чашек.

Оценка морфологических изменений в тканях ран и органах животных. После исследования микробной обсемененности ран у животных вырезали кожно-мышечный слой раны и кусочки паренхиматозных органов (легких, печени, селезенки), фиксировали в 10% растворе формалина.

Гистологические методы. Для фиксации органов животных использовали нейтральный 10% формалин. Отобранные для гистологического исследования кусочки органов обезвоживали в этаноле и бутаноле увеличивающихся концентраций и заливали парафином. Срезы парафиновых блоков готовили на микротоме Reichert-Jung 820-II (США) и помещали на предметные стекла. Затем срезы де-

парафинировали в ксилоле, проводили в спиртах нисходящей концентрации, промывали водой, окрашивали гематоксилин-эозином и заключали в балзам. Микроскопирование препаратов проводили на микроскопе Nikon Eclipse 80i (Япония), фотографировали препараты цифровой камерой Nikon DS-U2 (Япония) [4].

Статистические методы. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием общепринятых методов параметрической статистики (критерий Стьюдента) при помощи пакета Microsoft Excel 2007. Числовые данные приведены как среднее значение $\pm$ ошибка среднего ($M \pm m_x$). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

На основании литературных данных по отбору модели на генетически разнородных линиях мышей (*DBA/2*, *BALB/c*, *CBA*, *C3H/HeN*, *A/J*) для создания модели стрептококковой инфекции [10] были выбраны мыши линии *BALB/c*.

Изменение массы тела мышей в процессе наблюдения после заражения. Одним из основных показателей физиологического состояния организма животных после заражения является изменение их массы тела [3]. Результаты измерений интактных (без заражения) мышей и инфицированных штаммом *S. pyogenes* Dick-1 разными дозами (10^8 и 10^9 КОЕ/мышь) получены при ежедневном взвешивании животных в течение 21-х суток (рис. 1). Исходную массу определяли перед заражением мышей.

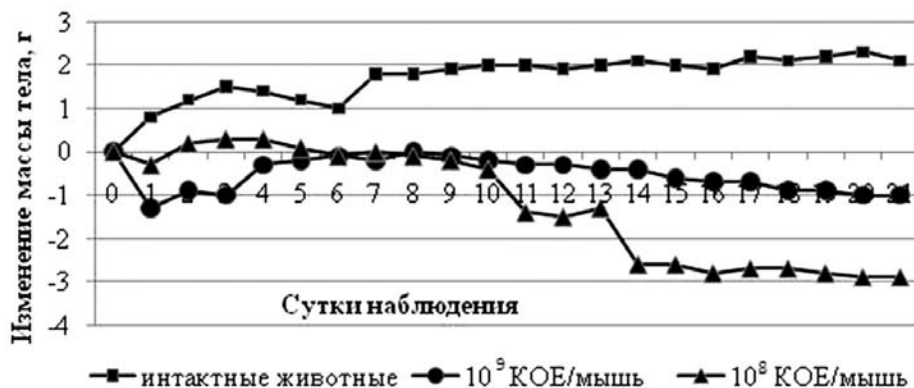


Рис. 1. Динамика изменений массы тела мышей, зараженных штаммом *S. pyogenes* Dick-1 в дозах 10^8 и 10^9 КОЕ/мышь, в качестве контроля использованы интактные (незараженные) мыши.

Как показано на рис. 1, при внутрикожном заражении стрептококком в дозе 10^8 КОЕ/мышь наблюдается снижение массы тела мышей с первых суток (по сравнению с интактными мышами) в результате формирования воспалительного процесса в месте введения инфекции. Со 2-х по 9-е сутки масса тела мышей – на исходном уровне, но меньше, чем у интактных мышей, что указывает на развитие инфекционного процесса. При дозе

заражения 10^9 КОЕ/мышь наблюдается потеря массы больше одного грамма, с восстановлением первоначальных значений к 6-м суткам при сформировавшейся ране, что показано на рис. 2. На 11-е сутки при заражении стрептококком в дозе 10^8 КОЕ/мышь происходит резкое снижение массы тела мышей (к 15-м суткам – до 2,5 г), и до конца наблюдений она не восстанавливается. Это связано с проникновением микроорганизмов в

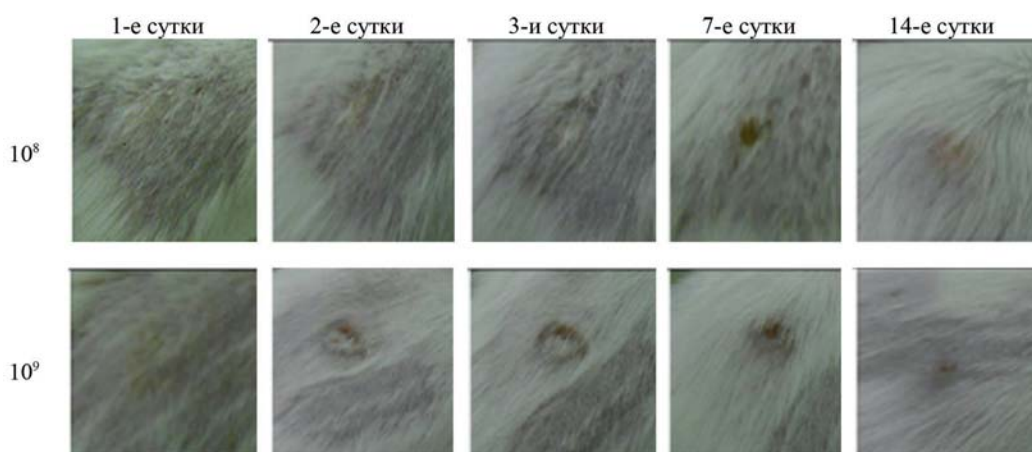


Рис. 2. Развитие раневой поверхности у мышей в течение 14-ти суток после внутрикожного введения бактериальных суспензий *S. pyogenes* Dick-1 в дозах 10^8 и 10^9 КОЕ/мышь, фотографии.

паренхиматозные органы, с выделением токсинов бактериями. Животные угнетены, меньше едят корм и пьют воду – соответственно, изменяется их вес.

Динамика заживления кожно-мышечной раны у мышей. Особое внимание при оценке стрептококковой раневой инфекции было уделено динамике изменений в кожно-мышечной ране при дозах заражения *S. pyogenes* Dick-1 10^8 и 10^9 КОЕ/мышь (рис. 2).

Для развития инфекционного процесса необходимо взаимодействие микроба и макроорганизма [6]. С этих позиций и будем рассматривать процесс колонизации и последующей микробной инвазии раневой поверхности.

Через 24 ч после заражения культурой *S. pyogenes* Dick-1 в дозах 10^8 и 10^9 КОЕ/мышь на месте введения образовалась папула с гиперемией кожного покрова и отеком около 5–6 мм вокруг места введения, а через 48 ч – прогрессирующий гнойно-воспалительный процесс с некротическим участком в месте введения. На 3-е сутки после заражения отмечали углубление некроза (диаметр некротической области составил 2–3 мм), цианоз окружающих тканей в месте введения и образование подкожной капсулы с гнойной инфильтрацией (при дозе заражения 10^9 КОЕ/мышь – менее выражена). К 7-м суткам происхо-

дит отторжение струпа и формирование грануляционной ткани. К 14-м суткам отмечено заживление раны, начало эпителизации пораженного участка и уменьшение внутрикожной капсулы с гнойной инфильтрацией (образование свища).

Микробная обсемененность раневой поверхности у мышей после инфицирования *S. pyogenes* Dick-1. Единственным и наиболее важным признаком инфицирования раны, по мнению Pruitt В.А. [12], является присутствие микроорганизмов в необожженной ткани, что может сопровождаться воспалительными реакциями. Наблюдается плотный рост микробов в струпе и пространстве под струпом, а также вдоль волосяных фолликулов и потовых желез. Были проведены эксперименты с использованием штаммов *Staphylococcus aureus* 178, *Pseudomonas aeruginosa* 165, в которых показана зависимость величины заражающей дозы и интенсивности гнойно-некротического очага раневой поверхности. Процесс заживления наступает через 10 дней после заражения [5].

Для определения количества бактерий стрептококка методом смывов с раневой поверхности пробы отбирали на 2, 3, 7, 14 и 21-е сутки после заражения мышей (по 5 мышей на точку). Данные обсемененности раневой поверхности приведены в табл. 1.

Таблица 1

Динамика микробной обсемененности раневой поверхности у мышей после инфицирования стрептококками штамма *S. pyogenes* Dick-1

Доза заражения, КОЕ/мышь	Сутки наблюдения / Обсемененность раневой поверхности, КОЕ/мл				
	2	3	7	14	21
10^8	$1,6 \pm 0,3 \times 10^3$	$8,9 \pm 0,3 \times 10^2$	$1,2 \pm 0,7 \times 10^{3*}$	$2,4 \pm 1 \times 10^{2*}$	$4,1 \pm 1,2 \times 10$
10^9	$2,2 \pm 0,5 \times 10^3$	$2,7 \pm 1,1 \times 10^{3*}$	$3 \pm 0,8 \times 10^2$	$7,4 \pm 2,1 \times 10$	$0,5 \pm 0,5 \times 10^*$

Примечание: * – достоверность отличий от контрольной группы без лечения ($p < 0,05$).

Из представленных в табл. 1 данных следует, что при заражении *S. pyogenes* Dick-1 дозой 10^8 КОЕ/мышь мышей линии BALB/c обсемененность раневой поверхности со 2-х суток и по 7-е сохраняется на одном уровне. К 14-м суткам происходит снижение стрептококков на раневой поверхности. Колонизация раневой поверхности сохраняется до 21-х суток при заражении *S. pyogenes* Dick-1 дозой 10^8 КОЕ/мышь со снижением обсемененности до 300-500 КОЕ/мл. При заражении *S. pyogenes* Dick-1 дозой 10^9 КОЕ/мышь снижение концентрации бактерий на раневой поверхности наблюдается с 7-х суток, а к 21-м суткам высеваются единичные колонии.

Определение количества бактерий *S. pyogenes* Dick-1 и длительность их персистенции в паренхиматозных органах мышей. Наличие условно-патогенной микрофлоры в ране ниже определенной концентрации не приводит к клинически выраженному инфекционному процессу, и организм справляется с таким бактериальным загрязнением раны; устанавливается паритет между микрофлорой и защитно-приспособительными

возможностями организма. Активное размножение бактерий на фоне снижения компенсаторных возможностей макроорганизма приводит к развитию клинически выраженной генерализованной инфекции. Такое взаимодействие макро- и микроорганизма всегда проявляется местными и общими симптомами инфекции [1].

Высевы из гомогенатов паренхиматозных органов инфицированных животных показали, что штамм *S. pyogenes* Dick-1 при внутрикожном введении вызывал генерализацию инфекции у зараженных животных (табл. 2).

Для определения обсемененности паренхиматозных органов мышей, зараженных штаммом *S. pyogenes* Dick-1, на 3, 7, 14 и 21-е сутки проводили эвтаназию CO_2 -ингаляцией по 5 мышей из групп с разными дозами заражения. При патологоанатомическом вскрытии мышей отмечали увеличение лимфатического узла, прилежащего к месту введения патогена (левый паховый), а также внутрикожный карман (абсцесс) в месте введения культуры. С 7-х суток наблюдалась паренхиматозная дистрофия селезенки и печени и пневмоторакс легких (спадание).

Таблица 2

Динамика обсемененности паренхиматозных органов мышей, зараженных клетками штамма *S. pyogenes* Dick-1

Доза заражения, КОЕ/мышь	Орган	Сутки наблюдения / Обсемененность органа, КОЕ/орган			
		3	7	14	21
10^8	селезенка	0	$5,9 \pm 0,3 \times 10^2$	$1,6 \pm 0,7 \times 10^3$	$7,2 \pm 1,2 \times 10$
	печень	0	$6,4 \pm 0,2 \times 10^3$	$5,8 \pm 0,25 \times 10^3$	$4,0 \pm 0,27 \times 10^3$
	почки	0	$8,0 \pm 0,5 \times 10^3$	$2,1 \pm 0,3 \times 10^2$	0
	легкие	$1,3 \pm 0,12 \times 10^3$	$2,0 \pm 0,2 \times 10^3$	$1,5 \pm 0,1 \times 10^4$	$7,6 \pm 0,23 \times 10^4$
10^9	селезенка	0	$7,2 \pm 0,3 \times 10^2$	$2,1 \pm 0,3 \times 10^3$	$2,2 \pm 0,2 \times 10^2$
	печень	0	$1,0 \pm 0,1 \times 10^4$	$1,6 \pm 0,15 \times 10^3$	$5,4 \pm 0,3 \times 10^2$
	почки	0	$7,3 \pm 0,4 \times 10^2$	$3,1 \pm 0,4 \times 10^2$	0
	легкие	$1,1 \pm 0,2 \times 10^3$	$8,2 \pm 0,4 \times 10^3$	$9,5 \pm 0,2 \times 10^4$	$1,5 \pm 0,14 \times 10^5$

Высевы из гомогенатов органов (селезенки, печени, легких) животных, зараженных стрептококком, показали, что уже на 3-и сутки обсемененность только в легких была на уровне $1,0 \times 10^3$ КОЕ/орган. К 7-м суткам инфекция проникала в другие органы (печень, селезенку) и сохранялась в течение всего времени наблюдения (см. табл. 2). Колонизацию стрептококком почек наблюдали с 7-х суток, но к 21-м суткам происходило самоочищение органа. Тогда как в легких за весь период наблюдения идет увеличение количества бактерий.

Морфологическое исследование раневой поверхности и паренхиматозных органов мышей, зараженных штаммом *S. pyogenes* Dick-1. Данные гистологического анализа свидетельствуют о том, что

при внутрикожном заражении стрептококком в раневой области на 7-е сутки наблюдается дефект эпидермиса и дермы, очаг ограничивается грануляционной тканью. При микроскопическом исследовании было выявлено, что гнойное воспаление с инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами и лимфоцитами распространяется в толщу мышечной ткани, приобретая характер флегмонозного. В окружающих тканях и инфильтрате обнаружено большое скопление кокков (рис. 3).

В селезенке и печени имела место интенсивная диффузная и очаговая инфильтрация полиморфноядерными лейкоцитами с гибелью отдельных клеток инфильтрата и очаговое скопление кокков (рис. 4А и рис. 4Б).

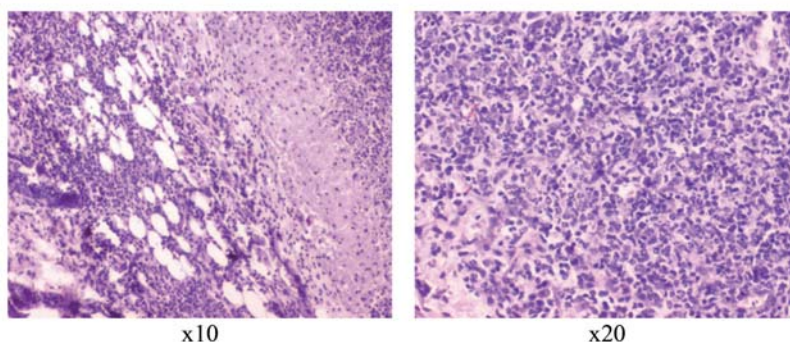


Рис. 3. Гистологический срез участка раневой поверхности мыши, зараженной штаммом *S. pyogenes* Dick-1 в дозе 10^9 КОЕ/мышь.

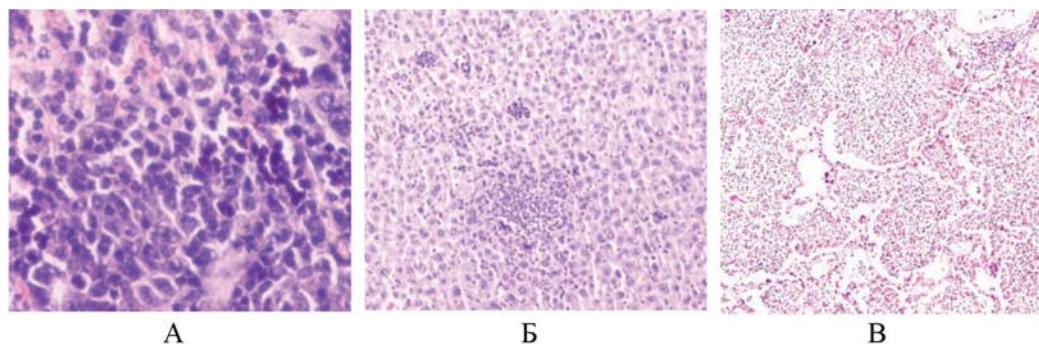


Рис. 4. Гистологический срез паренхиматозных органов мышей с раневой инфекцией, вызванной штаммом *S. pyogenes* Dick-1 в дозе 10^9 КОЕ/мышь: А – селезенка; Б – печень; В – легкие.

В гистологических срезах легких мышей, зараженных стрептококком, видно, что просвет альвеол заполнен экссудатом – сетчатыми массами фибрина и нейтрофильными лейкоцитами. Экссудат неплотно прилегает к стенкам альвеол (местами видны щелевидные просветы), по межальвеолярным ходам распространяется на соседние группы альвеол. В межальвеолярных перегородках отмечаются гиперемия сосудов, стаз, отек стромы и скопление кокков. В просвете части мелких сосудов – тромбы (рис. 4В).

Модель раневой инфекции при внутрикожном введении суспензии клеток штамма *S. pyogenes* Dick-1 аутобредным крысам. При создании модели раневой инфекции при формировании гнойно-некротического процесса в месте внутрикожного введения аутобредным крысам Wistar вводили суспензию клеток штамма *S. pyogenes* Dick-1. Инфицирование проводили дозой $4,0 \times 10^8$ КОЕ/крысу в две точки внутрикожно (0,3 мл) и в одну точку – подкожно (0,1 мл). В течение периода наблюдения поведенческие реакции (двигательная, пищевая активность) всех инфицированных крыс соответствовали норме.

При заражении крыс процесс формирования гнойно-некротического очага протекает так же, как при создании раневой инфекции у мышей.

Через 24 ч после заражения стрептококком на месте введения начинается воспалительный процесс с гиперемией кожного покрова и отеком около 1-2 см вокруг места введения. К 7-м суткам происходит отторжение струпа и формирование грануляционной ткани, по краям дефекта начинается формирование эпидермиса. К 14-м суткам отмечено заживление раны, эпителизация пораженного участка и замещение воспалительного дефекта созревающей грануляционной тканью, уменьшение внутрикожной капсулы с гнойной инфильтрацией (образование свища).

Оценка обсемененности раневой поверхности на 7-е и 14-е сутки выявила, что количество микроорганизмов, смытых с раны, незначительно увеличивалось на протяжении наблюдений и составило $3,0 \times 10^3$ – $1,4 \times 10^4$ КОЕ на 7-е сутки и $5,4 \times 10^4$ КОЕ на 14-е сутки. При патологоанатомическом вскрытии трех крыс отмечали, что состояние селезенки и печени было в пределах нормы, а лег-



7-е сутки



14-е сутки

Рис. 5. Изменение состояния раневой поверхности у крыс после внутрикожно-подкожного введения бактериальной суспензии штамма *S. pyogenes* Dick-1 в дозе 4×10^8 КОЕ/животное, фотографии.

кие гиперемированы с очаговыми кровоизлияниями и на 7-е, и на 14-е сутки. При высеве из легких зараженных крыс методом мазков-отпечатков на селективные среды наблюдали рост колоний стрептококка, чего не наблюдалось при высеве из печени и селезенки.

Выводы

1. Масса тела мышей при заражении культурой *S. pyogenes* Dick-1 является одним из основных показателей физиологического состояния организма животного. Экспериментально показано, что на 11-е сутки при заражении стрептококком в дозе 10^8 КОЕ/мышь происходит резкое падение массы тела на 2,5 г. С 15-х суток и до конца наблюдения данный показатель не восстанавливался.

2. При заражении стрептококком в дозах 10^8 и 10^9 КОЕ/мышь формирование кожного дефекта наступало с первых суток. С 14-х суток наблюдалось заживление и начало эпителизации пораженного участка и уменьшение внутрикожной капсулы с гнойной инфильтрацией (образование свища).

3. Обсемененность стрептококком раневой поверхности мышей линии *BALB/c* значительно снижалась за период наблюдения, и на 21-е сутки высевались единичные колонии.

4. Высевы из гомогенатов легких мышей, зараженных стрептококком, показали, что на 3-и сутки обсемененность легких составляла $1,0 \times 10^3$ КОЕ/орган. С 7-х суток инфекция проникала в другие паренхиматозные органы (печень, селезенку, почки) и сохранялась в течение всего времени наблюдения с уменьшением концентрации бактерий, т.е. 21 сутки.

5. Данные гистологического анализа подтверждают, что при внутрикожном заражении стрептококком происходит поражение эпидермиса и дермы и генерализация патологического процесса в паренхиматозных органах.

6. При создании стрептококковой раневой инфекции у крыс Wistar наблюдали воспалительный процесс в месте введения с поражением эпидермиса и дермы. Смывы с раневой поверхности показали значительную колонизацию кокками. Генерализация инфекции происходит с поражением легких.

7. Штамм *S. pyogenes* Dick-1 позволил смоделировать раневую инфекцию у мышей линии *BALB/c* и аутбредных крыс Wistar. Четкое понимание развития стрептококковой инфекции на животных-моделях поможет при разработке более эффективных терапевтических методов, применяемых для лечения стрептококковой инфекции у человека.

Список литературы

1. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Бобровников А.Э., Лагвилава М.Г., Яковлев В.П., Терехова Р.И. Диагностика раневой ожоговой инфекции. Методическая разработка. - М. 2009. С. 1-19.
2. Ильясов Ю.Ю., Лыгина Е.С., Дмитриев А.В. Спектр антибиотикорезистентности клинических изолятов стрептококков групп С и G, патогенных для человека // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2013. № 15(3). С. 235-238.
3. Комбарова Т.И., Павлов В.М., Кравченко Т.Б., Титарева Г.М., Бахтеева И.В., Борзилов А.И., Коробова О.В., Вахрамеева Г.М., Миронова Р.И., Мокриевич А.Н. Сравнительная оценка реактогенности туляремийной вакцины на различных биомоделях // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013. № 71(4). С. 54-62.
4. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. - СПб: Спецлит. 2010. 95 с.

5. Пушкина Т.В., Крылова Л.Ю., Шарапова С.А., Чичерина Л.А., Кузина О.С. Экспериментальная оценка химиотерапевтической эффективности и токсичности новой лекарственной формы диоксида – мази «лидокси-коль» // Химико-фармацевтический журнал. 2008. № 42(7). С. 34-37.
6. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. - Washington, DC: National Academy Press. Copyright 1996. ISBN 0-309-05377-3.
7. Шпынев К.В., Кречикова О.И., Кречиков В.А., Козлов Р.С. *Streptococcus pyogenes* характеристика микроорганизма, выделение, идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2007. № 9(2). С. 104-120.
8. Brock T.D. Milestones in microbiology. ASM Press. 1999. P. 1546-1940.
9. Fischetti V.A., Novick R.P., Ferretti J.J., Portnoy D.A. Gram-positive pathogens. ASM Press. Washington, DC. 2000. 849 p.
10. Goldmann O., Gursharan S. Chhatwal & Eva. Role of host genetic factors in susceptibility to group A streptococcal infections // Medina Indian J. Med. Res. 2004. No. 119. P. 141-143.
11. Lindahl G., Stalhammar-Carlemalm M., Arenschoug T. Surface proteins of *Streptococcus agalactiae* and related proteins in other bacterial pathogens // Clin. microbial. reviews. 2005. No. 18(1). P. 102-127.
12. Pruitt B.A. Burns and soft tissues // Infection and the surgical patient. Ed. by Polk H.C. - Churchill Livingstone. 1982 . Vol. 4. P. 113-131.

Creating a model wound streptococcal infection among laboratory *BALB/c* mice and Wistar rats through intradermal injection

Т.И. Комбарова, Т.И. Рудницкая, Н.С. Грищенко, Е.А. Ганина,
А.А. Котова, В.В. Кузин, В.Д. Потапов

The aim of this work was the establishment of a subsequent investigation of streptococcal wound infection model induced by subcutaneous administration of the bacteria strain of *Streptococcus pyogenes* Dick-1 by *BALB/c* mice and Wistar rats. As a result of experiments, it was found that the weight and organ colonization of animals infected with the culture *S. pyogenes* Dick-1 is one of the main indicators of the physiological state of the animal. This histological analysis provides evidence that infection with streptococcus intradermal occurs defeat the epidermis and dermis with generalizations of the pathological process in the parenchyma organs (lungs, spleen, liver, kidneys). During observations of the infectious process there was a significant reduction in contamination of the wound surface among mice by the end of the experiment on day 21 single colonies were inoculated. Analysis of the results showed that the spread of infection among mice begins with lung disease, since the 7th day we can observe generalization of infection with the penetration in other parenchyma organs. The washes from the wound surface in rats, in contrast, showed a significant streptococcal colonization. Locating the source of infection occurred in the lungs, a condition of other parenchyma organs remained within normal limits.

Key words: biological models, wound infection, intradermal injection, strain *S. pyogenes* Dick-1, rats, mice.