

i sistemy krovi pri luchevoj patologii: materialy konf. M., 1970, S. 36–38.

4. Bebashko V. G., Kovalenko A. N., Belyj D. A. Jevolucija radiacionnogo porazhenija gemopojeticheskoy sistemy // Ostryj radiacionnyj sindrom i ego posledstviya (po materialam 15-letnego nabljudenija za sostojaniem zdorov'ja lic, postradavshih v svjazi s Chernobyl'skoj katastrofoj). Ternopol': TGMU; Ukrmedkniga, 2006. S. 99–176.

5. Watanabe S. Nuclear hematology. N. Y.: Acad. Press, 1965. 485 p.

6. Medical survey of Japanese exposed to fallout radiation in 1954: report after 10 years / T. Kumatora, T. Ishihara, T. Ueda [et al.] // Natl. Inst. Sci. Chiba, 1965.

7. A review of thirty years study of Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors. // J. Radiat. Res. 1975. Suppl. 1. P. 16.

8. Gol'dberg E. D. Radiacionnye lejkozy. Tomsk: Izd-vo Tomsk. un-ta, 1969. 146 s.

9. Posledstviya i ishody ostroj luchevoj bolezni cheloveka (40–45 let nabljudenija) / Okladnikova N. D., Pesternikova V. S., Sumina M. V. [i dr.] // Med. radiol. i radiac. bezopasnost', 2000. T. 45, № 2. S. 16–22.

10. Sostojanie pokazatelej perifericheskoy krovi v periode otdalennyh posledstvij u lic, perenessih ostruju luchevoju bolezni' v rezul'tate avarii na ChAJeS / L. A. Suvorova, V. N. Pokrovskaja, G. P. Gruzdev [i dr.] // Problemy gematologii i perelivaniya krovi. 1996. № 1. S. 24–30.

11. Sokolov V. V., Gribova I. A. Sostojanie sistemy krovi u zdorovyh ljudej // Pokazateli sostojaniya osnovnyh sistem organov zdorovogo cheloveka. M., 1977. S. 69–84.

12. Zufarov A. K. Klinicheskaja ocenka morfofunkcional'nyh izmenenij krovi pri nekotoryh zabojevanijah pecheni: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Tashkent, 1978. 17 s.

13. Shiffman R. Dzh. Obrazovanie i kinetika trombocitov // Patofiziologija krovi: sb. / per. s angl. SPb.: Binom — Nevskij Dialekt, 2001. S. 150–153.

14. Dashtajanc G. A. Klinicheskaja gematologija. Kiev: Zdorov'ja, 1968. 361 s.

15. Rjazanceva N. V., Novickij V. V., Rjazancev V. P., Bychkov A. V. Vlijanie ozhogovoj travmy na jeritrocitu // Gematologija i transfuziologija. 2002. T. 47, № 1. S. 25–29.

УДК 615.311

Краткое сообщение

НОВЫЙ МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ МОЧИ У ОБЛУЧЕННЫХ МЫШЕЙ

А. А. Иванов — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», заведующий лабораторией, профессор, доктор медицинских наук; **Г. А. Шальнова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», старший научный сотрудник, доктор медицинских наук; **В. Н. Мальцев** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», ведущий научный сотрудник, профессор, доктор медицинских наук; **А. М. Уланова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук; **Н. М. Ставракова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», научный сотрудник; **Т. М. Булынина** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», инженер.

NEW METHOD OF INVESTIGATION OF URINE MICROFLORA IN MICE AFTER IRRADIATION

A. A. Ivanov — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Head of laboratory, professor, Doctor of Medical Sciences; **G. A. Shalnova** — FSBE State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Senior scientific researcher, Doctor of Medical Sciences; **V. N. Maltsev** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Leading scientific researcher, Professor, Doctor of Medical Sciences; **A. M. Ulanova** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Senior scientific researcher, Candidate of Medical Sciences; **N. M. Stavrakova** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Scientific researcher; **T. M. Bulynina** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Engineer.

Дата поступления — 11.12.2013 г.

Дата принятия в печать — 16.12.2013 г.

Иванов А. А., Шальнова Г. А., Мальцев В. Н., Уланова А. М., Ставракова Н. М., Булынина Т. М. Новый метод изучения микрофлоры мочи у облученных мышей // Саратовский научно-медицинский журнал. 2013. Т. 9, № 4. С. 890–892.

Цель: изучить возможность использования метода бумажных дисков для определения микробов в моче облученных мышей. **Материал и методы.** Изучали микрофлору мочи мышей (СВАхС57Bl) F₁ после воздействия γ-лучей в дозах 5,0 (ЛД_{20/30}), 6,5 Гр (ЛД_{30/30}), 7,0 и 10,0 (ЛД_{100/30}) Гр при помощи нового метода бумажных дисков (Ø=5 мм), которые пропитывали одной каплей мочи и помещали на поверхность твердой питательной среды Эндо. Методику апробировали на модели эндогенной инфекции при острой лучевой болезни мышей. Пробы инкубировали в течение одних суток в термостате при 37°С и учитывали число дисков с ростом бактерий. **Результаты.** Установлено усиление бактериурии в зависимости от дозы воздействия радиации. Эффект начинает проявляться в латентный период острой лучевой болезни, достигает максимальной выраженности в ее разгар и нормализуется в восстановительный период. Из мочи облученных животных выделяли кишечные палочки, протей и энтерококки. **Заключение.** Для изучения микрофлоры мочи облученных мышей пригоден метод бумажных дисков. Он прост в исполнении, экономичен и демонстративен.

Ключевые слова: моча, острая лучевая болезнь, бумажные диски, среда Эндо, γ-лучи.

Ivanov A. A., Shalnova G. A., Maltsev V. N., Ulanova A. M., Stavrakova N. M., Bulynina T. M. New method of investigation of urine microflora in mice after irradiation // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2013. Vol. 9, № 4. P. 890–892.

For investigation of urine microflora in mice we offered to use paper disks. This new method was tested in finding of infection on the mice (СВАхС57Bl) F₁ after total body γ-irradiation at 6,5 Gr (LD_{80/30}). The paper disks were impreg-

nated with one drop of urine, placed on surface Endo media, incubate in thermostat (37°C) in during 1–2 days and numbers of positive crops (Esch. coli, Proteus, Enterococcus, were indicated. It was shown that after irradiation the numbers of positive probes increased. The test displayed that the method is easy, economic and demonstrative.

Key words: urina, acute radiation disease, paper discs, Endo media, γ -rays.

Введение. Актуальность бактериологического контроля состояния мочевыделительной системы в радиобиологических исследованиях не вызывает сомнения. Для выявления бактериурии используют различные лабораторные методики: бактериологические, микроскопические, химические, иммунологические [1, 2]. Они предназначены для обследования людей, требуют взятия большого количества мочи и неприменимы для работы с мелкими лабораторными животными. В предыдущих наблюдениях использовали бумажные диски для изучения микрофлоры ротовой полости у крыс и собак [3, 4].

Цель настоящего исследования: изучить возможность использования метода бумажных дисков для определения микробов в моче облученных мышей.

Материал и методы. Бумажные диски из фильтровальной бумаги получали при помощи канцелярского дырокола. Их стерилизовали в сухожаровой печи при 160°C в течение 1,5 часа. Диски фиксировали прокаленным и остуженным пинцетом, пропитывали второй каплей выделяемой мышами мочи прямо у наружного отверстия мочеиспускательного канала. Пропитанные мочой диски помещали на поверхность твердой питательной среды Эндо в чашке Петри. На одной чашке диаметром 9 см можно разместить 20 и более дисков. Чашки Петри с посевами выдерживали в термостате при 37°C. Через сутки учитывали рост микробов. Данные о высеваемости бактерий из мочи зарегистрированы. Идентификацию выросших культур проводили по характеру их роста на питательной среде, окраске по Грамму и биохимическим пробам.

В опытах использованы мыши (СВА×С57В) F1 массой около 20 г, самцы и самки из питомника «Столбовая». Контрольные наблюдения выполнены на интактных мышах (биоконтроль). Мышей подвергали воздействию γ -лучей на установке «Рокус-М» в дозах 5,0 (ЛД_{20/30}), 6,5 Гр (ЛД_{80/30}), 7,0 и 10,0 (ЛД_{100/30}) Гр при мощности 1 Гр/мин, что приводило к развитию у них кишечной (7,0 и 10,0 Гр) или костномозговой (5,0; 6,5 Гр) формы ОЛБ. Наблюдения проведены на группах мышей, в каждой из которых было по 20 животных.

Мышей обследовали в различные сроки после воздействия излучения; интактных – одновременно с облученными. Опыты проводили с учетом «Правил проведения опытов с использованием экспериментальных животных. Приложение Е» (приказ МЗ СССР от 12.08. 1977 г. № 755).

Результаты полученных наблюдений обработаны при помощи стандартных методов вариационной статистики [5, 6], иллюстрируются рисунком.

При статистической обработке полученных результатов определяли значения средних арифметических в группах, их стандартные ошибки, статистическую значимость показателей между различными группами (критерий χ^2), корреляцию (r) между смертностью мышей в группах и высеваемостью микробов из мочи. С этой целью использовали компьютерную программу Biostat.

Результаты. В группе биоконтроля, судя по суммарным данным, погибло 5 мышей из 65 (7,7±3,3%), что можно объяснить наличием в группе ослабленных животных, из 65 посевов положительными у них были 17 (26,1±5,4%).

Радиационное воздействие в дозе 10,0 Гр приводило к гибели всех 80 мышей на 8-е сутки после облучения. При обследовании на 1-е и 2-е сутки после облучения из 160 анализов положительными были 101 (63,1±3,8%). При обследовании выживших животных перед гибелью (6-е и 7-е сутки ОЛБ) из 38 взятых проб все были положительными. Этот эффект по сравнению с группой биологического контроля статистически значим, $\chi^2=32,8$; $p<0,001$.

Радиационному воздействию в дозе 7,0 Гр подвергались 80 мышей, из которых погибло 76 (95%) На 8-е сутки ОЛБ было 24 положительных посева из 80 (30,0%), на 12-е из 44 анализов положительными были 21 (47,7%), на 19-е сутки у 4 выживших животных рост был во всех пробах (100,0%). Эффект статистически значим по сравнению с группой биоконтроля, $\chi^2=9,2$; $p=0,002$.

Радиационному воздействию в дозе 6,5 Гр (М) было подвергнуто 40 мышей, из которых погибло 35 мышей (87,5%). На 7-е сутки ОЛБ из 30 посевов положительными были 26 (86,6%), в последующие сроки (12-е) 20 из 26 (76,9%) и на 19-е сутки 8 из 13 посевов были положительными (61,5%). На 27-е сутки ОЛБ зафиксирован 1 положительный посев из 10 (10,0%) и на 34-е сутки все посева были отрицательными.

После воздействия излучения в дозе 5,0 Гр из 30 мышей пало 4 (13,3%). На 6–8-е сутки после облучения у этих мышей из 58 взятых проб положительными были 18 (31,0%). В группе биологического контроля гибели не было, из 10 взятых проб положительными были 3 (30%).

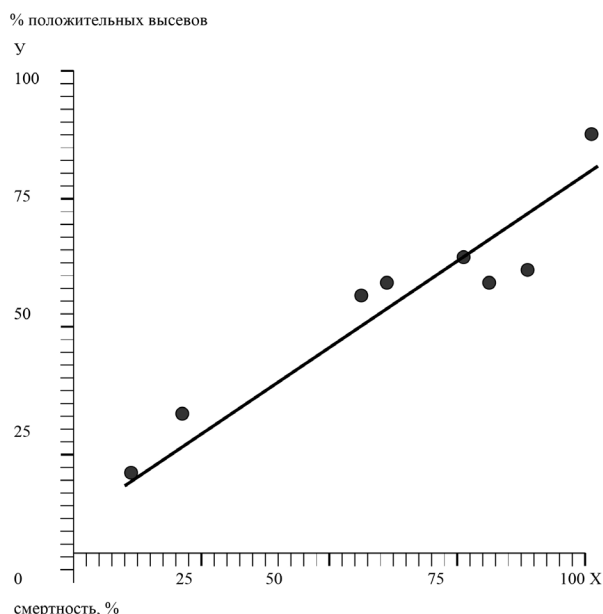
При сопоставлении данных отмечается корреляция между смертностью и высеваемостью микробов из мочи (рисунок).

У выживших животных на 30-е сутки после облучения в восстановительный период ОЛБ проведено 66 обследований, из которых 18 были положительными (27,3±5,5%). По сравнению с периодом разгара это снижение статистически значимо, $\chi^2=28,0$; $p<0,001$, но не отличается от показателей интактных мышей.

Таким образом, подводя итог проведенным исследованиям, можно отметить, что после воздействия излучения выделение микробов с мочой начинается в латентный период ОЛБ и достигает максимальной выраженности в период разгара болезни. Эффект зависит от дозы излучения, воздействующей на организм. Полученные данные созвучны со всеми проведенными ранее исследованиями по изучению эндогенной инфекции в облученном организме. Изучение бактериурии у мелких лабораторных животных (мышей) стало возможным только благодаря применению метода бумажных дисков.

Метод дисков позволил идентифицировать не только тип микробов, но и их вид. В первом опыте в группе биоконтроля из 49 посевов кишечные палочки высевались в двух случаях (4,1±2,8%), протей — в одном случае (2,0±2,0%), а энтерококки вообще не выделялись.

Ответственный автор — Иванов Александр Александрович
Адрес: 123182, Москва, ул. Живописная, 46.
Тел.: 8-499-190-96-35; 8-903-159-40-91
E-mail: fmbc-fmba@bk.ru



Корреляционная зависимость между смертностью мышей в группах и высеваемостью микробов из мочи. По оси абсцисс (X) — процент смертности мышей в группах за 30 сут; по оси ординат (Y) — процент высевок кишечной палочки из мочи.

Примечание: корреляционная зависимость может быть представлена в виде типовой формулы: $y = a + bx$ или $y = 9,2 + 0,72x$ где a — показатель высеваемости микробов при нулевой смертности в группе; x — % смертности; y — % проб с ростом микробов; b — угловой коэффициент характеризует увеличение процента положительных посевов при увеличении смертности, $r = 0,92$; $t = 5,03$; $p = 0,04$. Коэффициент аппроксимации, характеризующий среднее отклонение практических точек от теоретической кривой ($\epsilon = 9,3\%$), свидетельствует об адекватности формулы экспериментальным данным.

В группах облученных животных из 116 посевов кишечные палочки высевались в 18 (15,5±3,4%), протеи — в 34 (29,3±4,2%), энтерококки в 18 случаях (15,5±3,4%) [6]. В других опытах (46 посевов) кишечные палочки выделяли в 2 (4,3±3,0), энтерококки в 25 случаях (54,3±7,3%), а протеи не определялся. В опыте, проведенном на самках, до и после облучения высевали только энтерококки.

Обсуждение. Использование метода бумажных дисков дало возможность оценить выраженность микробной контаминации мочи у облученных мышей. Судя по результатам идентификации выделенных культур, среди бактерий преобладали кишечные палочки, протеи и энтерококки. Полученные результаты созвучны с данными выделения уринокультур у больных, пострадавших при аварии на Чернобыльской АЭС [7].

Использованный ранее метод посева бактериальной петлей для учета микробов в моче [1, 2] требует

большого количества чашек Петри со средой Эндо (по одной на посев). Предлагаемый метод бумажных дисков является экономичным. На поверхности питательной среды можно разместить более двадцати дисков, пропитанных мочой.

Применение метода бумажных дисков существенно расширяет методические возможности проведения экспериментов на мелких лабораторных животных (мышях). В доступной нам литературе мы не встретили описания подобного метода обнаружения микробов в моче.

Заключение. Для изучения микрофлоры мочи облученных мышей пригоден метод бумажных дисков. Он прост в исполнении, экономичен и демонстративен. Метод бумажных дисков целесообразно использовать для мелких лабораторных животных (мышей), у которых трудноприменимы другие методы бактериологических исследований мочи.

Конфликт интересов не заявляется.

Авторы выражают благодарность Виктору Николаевичу Гаевскому — сотруднику Объединенного института ядерных исследований (г. Дубна), осуществлявшему облучение животных и дозиметрическое сопровождение опытов.

Библиографический список

1. Меньшиков В. В. Клиническая и лабораторная аналитика. М., 2003. Т. 4. 283 с.
2. Руководство по урологии. М.: Медицина. 1998. Т. 1. 395 с.
3. Клемпарская Н. Н., Шальнова Г. А. Аутофлора как индикатор радиационного поражения организма. М., 1966. 207 с.
4. Шальнова Г. А. Метод определения количественного и качественного состава микрофлоры верхних дыхательных путей // Лаб. Дело. 1962. № 12. С. 24–26.
5. Каминский Л. С. Статистическая обработка лабораторных и клинических данных. М., 1964. 150 с.
6. Лакин Т. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 2008. 291 с.
7. Иванов А. А., Шальнова Г. А., Уланова А. М. Инфекционные процессы у больных острой лучевой болезнью, пострадавших в результате аварии на ЧАЭС // Медицина труда и пром. экология. 2005. № 3. С. 1–7.

Translit

1. Men'shikov V. V. Klinicheskaja i laboratornaja analitika. M., 2003. T. 4. 283 s.
2. Rukovodstvo po urologii. M.: Medicina. 1998. T. 1. 395 s.
3. Klemparskaja N. N., Shal'nova G. A. Autoflora kak indikator radiacionnogo porazhenija organizma. M., 1966. 207 s.
4. Shal'nova G. A. Metod opredelenija kolichestvennogo i kachestvennogo sostava mikroflory verhnih dyhatel'nyh putej // Lab. Delo. 1962. № 12. S. 24–26.
5. Kaminskij L. S. Statisticheskaja obrabotka laboratornyh i klinicheskikh dannyh. M., 1964. 150 s.
6. Lakin T. F. Biometrija. M.: Vysshaja shkola, 2008. 291 s.
7. Ivanov A. A., Shal'nova G. A., Ulanova A. M. Infekcionnye processy u bol'nyh ostroj luchevoj bolezni'ju, postradavshih v rezul'tate avarii na ChAJeS // Medicina truda i prom. jekologija. 2005. № 3. S. 1–7.

УДК: 535.2; 621.373.826

Оригинальная статья

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОВЕРКА ПРИНЦИПА НАЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ УРОВНЕЙ МНОГОЦВЕТНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

В. А. Ивашин — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», заведующий лабораторией, доцент, кандидат медицинских наук; **В. П. Соловьев** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», ведущий научный сотрудник, кандидат медицинских наук.