

VINNYTSIA NATIONAL PYROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY

BIOMEDICAL AND BIOSOCIAL ANTHROPOLOGY

SCIENTIFIC JOURNAL

№26 2016

CONTENT

Мороз В.М., Палій Г.К., Ковальчук В.П.
Академік Заболотний Данило Кирилович - обдарований народом України безсмертям (до 150-річчя з дня народження)

7

Moroz V.M., Paliy G.K., Kovalchuk V.P.
Academician Zabolotnyi Danylo Kyrylovych - gifted with immortality by Ukrainian people (to the 150th anniversary of birth)

ORIGINAL ARTICLES

Деркач С.А., Воронкіна І.А., Кхедер С.С., Габишева Л.С., Крилова І.А.

Вплив біоцидних засобів (Мірамістину та Хілаку) на процес біоплівкоутворення *S.Aureus*

12

Derkach S.A., Voronkina I.A., Kheder S.S., Gabysheva L.S., Krilova I.A.

The effect of biocidal products (Miramistin and Hylak) on the biofilmformation process of *S.Aureus*

Климнюк С.І., Покришко О.В., Винничук М.О., Симчак Р.В., Тулайдан Г.М., Барановський В.С., Гришук Б.Д.

Дослідження біологічної активності похідних 2-амінотіазол-4(5H)-ону

16

Klymnyuk S.I. Pokryshko O.V., Vynnychuk M.O., Symchak R.V., Tulaydan H.M., Baranovskyi V.S., Grischuk B.D.

A study on biological activity of 2-aminothiazol-4(5H)-one derivatives

Кондратюк В.М., Ковальчук В.П., Безулий М.М., Фомін О.О.

Характеристика здатності до утворення біоплівок мікрофлори вогнепальних та мінно-вибухових ран кінцівок

20

Kondratiuk V.M., Kovalchuk V.P., Bezulyi M.M., Fomin O.O.

Characteristics of the ability to biofilm formation among microorganisms isolated from gunshot and blast wounds of extremities

Трофіменко Ю.Ю., Буркот В.М., Макац Є.Ф.

Динаміка утворення біоплівок на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок *Pseudomonas aeruginosa* та *Acinetobacter baumannii*

23

Trofimenko Yu.Yu., Burkot V.M., Makatz E.F.

The dynamics of the of biofilms on the surface of endotracheal intubation tubes *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*

Кучеренко О.М.

Особливості гормонального фону у дівчат юнацького віку з аномальними матковими кровотечами різних морфотипів залежно від фаз менструального циклу

26

Kucherenko O.

Peculiarities in levels of hormones in girls with uterine bleeding and on different phases of menstrual cycle

Назарчук Г.Г., Гуменюк М.І., Назарчук О.А., Коваленко І.М.

Етіологічна структура та чутливість до антибіотиків, антисептиків збудників гнійно- запальних захворювань

29

Nazarchuk G.G., Humenuk M.Iv., Nazarchuk O.A., Kovalenko I.N.

Etiological structure and sensitivity of pathogens of purulent-inflammatory diseases to antibiotics and antiseptics

Пантьо В.В., Коваль Г.М., Пантьо В.І.

Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на антибіотикочутливість мікроорганізмів - збудників гнійно-запальних захворювань

33

Pantyo V.V., Koval G.M., Pantyo V.I.

The impact of low intensity laser radiation on antibiotic sensitivity of microorganisms - causative agents of purulent inflammatory diseases

Попов М.М., Мішина М.М., Маланчук С.Г., Козлов О.П.

Комплексна дія світлодіодного випромінювання та антисептичних препаратів, що містять Динатрію едетат, на добові біоплівки клінічних штамів *Pseudomonas aeruginosa*

37

Popov M.M., Mishina M.M., Malanchuk S.G., Kozlov O.P.

Complex activity of led emission with antiseptic preparations containing disodium edetate, on daily biofilms of pseudomonas aeruginosa clinical strains

Поліщук С.С.

Експериментальне дослідження загоєння травматичних пошкоджень слизової оболонки порожнини рота щурів при порушенні функції гепатобіліарного тракту

41

Polischuk S.S.

Experimental investigation of the healing of traumatic injuries of the oral mucosa of rats in violation of the function of the hepatobiliary tract

Попов М.М., Калініченко С.В., Чаусовська Т.А., Бабич Є.М., Коротких О.О., Ківа Ф.В., Коваленко О.І., Балак О.К.

Вплив електромагнітного випромінювання та газового складу атмосфери культивування на здатність стафілококів і коринебактерій до біоплівкоутворення

45

Popov M.M., Kalinichenko S.V., Chausovska T.A., Babych E.M., Korotkikh O.O., Kiwa F.V., Kovalenko O.I., Balak O.K.

The influence of electro magnetic irradiation and gas composition of cultivation conditions on the ability of staphylococci and corynebacteria to biofilm formation

Филимонова Н.И., Гейдерих О.Г., Литаров В.Е.

Перспективы создания мягких лекарственных форм на основе антисептиков неорганической природы

49

Filimonova N.I., Geyderich O.G., Lytharov V.E.

Prospects of creation of soft medicinal forms based on inorganic antiseptics

Юрчишин О.І., Куровець Л.М., Руско Г.В.

Вивчення протимікробних і антибіотикопотенціюючих властивостей спиртових рослинних екстрактів відносно шкірних ізолятів стафілококів - збудників піодермій з різними механізмами MLS-резистентності

52

Yurchyshyn O.I., Kurovets L.M., Rusko H.V.

Research of ethanol plant extracts antimicrobial properties and synergy with erythromycin against skin isolates of MLS-resistant staphylococci

- Баташова-Галинская В.А., Новиков С.А., Яблонская В.Б.**
О значении ультразвука в реабилитации больных инфарктом миокарда с сопутствующим шейным остеохондрозом
- Бобрук С.В., Трет'яков М.С., Грїжимальська К.Ю.**
Показники сануючої ефективності нового антисептичного засобу для обробки слизових оболонок
- Гончаренко О.В.** Критична ішемія нижніх кінцівок у хворих на цукровий діабет та облітеруючий атеросклероз
- Жорняк О.І., Стукан О.К., Сорokoумова Л.К.**
Вплив білкового навантаження на антимікробну активність антисептичних препаратів
- Демчук А.В.**
Фармакоекономічний ABC- та VEN-аналізи лікування пацієнтів з негоспітальною пневмонією на тлі супутніх хронічних захворювань
- Костриков С.О., Смотрицька Т.В., Московко С.П.**
Нейровізуалізаційні особливості головного мозку пацієнтів з гострим порушенням мозкового кровообігу на фоні лакунарного ураження головного мозку та атрофії мозкової тканини. Взаємодія різних ознак патології мілких судин головного мозку між собою
- Красій Н.І., Климнюк С.І., Покришко О.В.**
Спектр мікроорганізмів, виділених від хворих у відділенні анестезіології та інтенсивної терапії
- Ночвіна О.А.**
Характеристика структурних змін внутрішніх статевих органів у жінок з синдромом хронічного тазового болю
- Фомін О.О., Фоміна Н.С., Кондратюк В.М.**
Характеристика біологічних властивостей мікрофлори, виділеної з ран постраждалих в зоні АТО
- Римша О.В., Яцула О.В., Гончар О.О.**
Ефективність декасану у комплексному лікуванні хворих із загостренням хронічного циститу
- Шкурупій Д.А., Беляєв І.С.**
Санация ротової порожнини - засіб профілактики вентилятор-асоційованої пневмонії у новонароджених
- Мартинчук Н.О.**
Первинний криптококоз шкіри у ВІЛ-інфікованого пацієнта: аспекти діагностики та лікування
- Берега Б.М., Чепель Л.І., Берега Є.М., Шевчук Н.М.**
Вивчення клінічної ефективності лікувальної композиції з декаметоксином у хворих хронічним генералізованим катаральним гінгівітом та хронічним генералізованим пародонтитом
- 109 **Batashova-Galynskaya V.A., Novikov S.A., Yablonskaya V.B.**
On the role of ultrasound in the rehabilitation of the patients with myocardial infarction with the assident cervical osteochondrosis
- 112 **Bobruk S.V., Tret'yakov M.S., Grijimalska K.Ju.**
Indicators sanitizing the effectiveness of new antiseptic agents for treatment of the mucous membranes
- 115 **Goncharenko O.V.**
Critical limb ischemia in patients with diabetes and atherosclerosis
- 118 **Zhornjak O.I., Stukan O.K., Sorokoumova L.K.**
Antimicrobial action characteristics of antiseptics under protein loading to microorganisms
- 121 **Demchuk A.V.**
Pharmacoeconomic ABC- and VEN-analyses of treatment of community-acquired pneumonia patients with comorbidities
- 124 **Kostrikov S.O., Smotrytska T.V., Moskovko S.P.**
Distinctive features of brain neuroimaging characteristics in patients with acute stroke against the background of lacunar infarctions and brain atrophy. Interaction between different cerebral small vessel disease signs
- 129 **Krasij N.I., Klymnyuk S.I., Pokryshko O.V.**
The spectrum of microorganisms isolated from patients in the department of anesthesiology and intensive care
- 132 **Nochvina O.A.**
The characteristics of structural changes of internal reproductive organs in women with chronic pelvic pain syndrome
- 136 **Fomin O.O., Fomina N.S., Kondratjuk V.M.**
Characteristics of biological properties of microflora isolated from wounds of injured victims in ATO zone
- 140 **Rymsha E.V., Yatsula O.V., Gonchar O.O.**
The effect of Dekasan in complex treatment of patients with escalation of chronic cystitis
- 143 **Shkurupiy D.A, Bieliaiev I.S.**
Sanitation of oral cavity - option for prevention of ventilator-associated pneumonia in newborns
- 146 **Martynchuk N.**
Primary cryptococcosis of skin in HIV-infected patient: aspects of diagnosis and treatment
- 149 **Bereza B.M, Chepel L.I., Bereza Ye.M., Shevchuk N.M.**
The study of the clinical efficacy of therapeutic compositions with decamethoxine in patients with chronic generalized catarrhal gingivitis and chronic generalized periodontitis

METHODICAL ARTICLES

- Колодій С.А., Кордон Ю.В., Шевчук Н.М.**
Роль тестового контролю у вдосконаленні вивчення мікробіології
- Malik V.D., Kalashnikov A.V.**
The algorithm of surgical treatment of trochanteric fractures of the femur
- Арсенюк В.В., Петрук Д.В., Зарицький О.О., Гайсенюк Л.В., Бартош А.М., Дідич Т.В., Гринів О.В.** Епідуральна анестезія як ефективний компонент мультимодальної анальгезії лікувального алгоритму при травмі підшлункової залози та післятравматичному панкреатиті
- 155 **Kolodiy S.A., Kordon Yu.V., Shevchuk N.M.**
The role of the test control in the improvement of the study of microbiology
- 157 **Малик В.Д., Калашников А.В.**
Алгоритм оперативного лікування вертлюгових переломів стегнової кістки
- 160 **Arsenyk V.V., Gaysenyk L.V., Zaritskyi O.O., Petruk D.V., Bartosh A.M., Didych T.V., Gryniv O.V.**
Epidural anesthesia as an effective component of multimodal analgesia treatment algorithm for pancreatic injury and posttraumatic pancreatitis

© Кондратюк В.М., Ковальчук В.П., Безулий М.М., Фомін О.О.

УДК: 617.57/.58-001.4:579.262

Кондратюк В.М., Ковальчук В.П., Безулий М.М., Фомін О.О.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 210118, Україна), Військово-медичний клінічний центр Центрального Регіону Вінниця (вул; Свердлова, 185, м. Вінниця, 21018 Україна) ’

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗДАТНОСТІ ДО УТВОРЕННЯ БІОПЛІВОК МІКРОФЛОРИ ВОГНЕПАЛЬНИХ ТА МІННО-ВИБУХОВИХ РАН КІНЦІВОК

Резюме. *Бойові рани характеризуються тривалим до загоєння перебігом, який ускладнюється гнійно-запальними процесами. Встановлено, що хронічні інфекційні ускладнення спричиняють бактерії, здатні утворювати біоплівки. Метою дослідження було оцінити здатності до утворення біоплівок мікрофлорою, що виділяється з бойових ран. Серед сімдесяти семи ізолятів 57(74%) виявили здатність до біоплівкоутворення. Усі виділені штами псевдомонад, тридцять штамів акінетобактерій(73%), 5 штамів (66%) *Enterococcus spp* утворювали біоплівки. Ентеробактерії та стафілококи виявились найслабшими біоплівкоутворювачами.*

Ключові слова: *бойові рани, мікрофлора, бактеріальна біоплівка.*

Вступ

Протягом останніх двох років, українські військові лікарі стикнулись з новим викликом у вигляді бойових поранень. Зазвичай, це масивні пошкодження кісток та м'яких тканин, характеризуються тривалим періодом часу до загоєння рани, супроводжуються приєднанням інфекційних ускладнень. Із досвіду попередніх війн встановлено факт зміни мікрофлори у процесі лікування таких поранень [6, 7]. Нажаль, найчастіше внаслідок впливу умов навколишнього середовища, методів лікування, нераціональної протимікробної терапії на різних етапах евакуації пораненого, рани заселяються нозокоміальною мікрофлорою. Подолання полірезистентності цих мікроорганізмів до протимікробних засобів є складним завданням для практичної медицини та мікробіології.

Полірезистентні мікроорганізми, до яких відносяться *Acinetobacter baumannii*, метицилін-резистентні *Staphylococcus aureus*, ентеробактерії, які продукують бета-лактамази розширеного спектру дії, часто є причиною інфекційних ускладнень, що обважують перебіг основного захворювання, підвищують рівень летальності та вартість лікування [4, 5]. Численні дослідження доводять, що в більшості, ці інфекційні ускладнення спричиняють бактерії, що здатні прикріплюватись до поверхонь та утворювати полімікробні товариства, відомі як біоплівки [3]. Існування у вигляді біоплівок супроводжується значними змінами експресії генів та синтезу додаткових протеїнів, що проявляється резистентністю до протимікробних речовин та факторів імунного захисту [10]. Утворення біоплівок розглядається як фактор, що спричиняє та підтримує хронічні інфекційні процеси [1, 2].

Мета дослідження - оцінити здатність до біоплівкоутворення мікроорганізмів, що виділялись з бойових поранень кінцівок, отриманих військовослужбовцями під час проведення АТО у 2014 році.

Матеріали та методи

Протягом 2014 року від осіб чоловічої статі, які були поранені на сході України та проходили лікування у Військово-медичному клінічному центрі Центрального Регіону було виділено 100 штамів мікроорганізмів. Бактерії отримано від 39 поранених з 49 ран, серед яких було 8 поранень виключно м'яких тканин та 41 вогнепальний перелом. Жоден із пацієнтів не мав черепно-мозкової травми або інших захворювань що викликають імуносупресію. На етапах евакуації до ВМКЦ ЦРусім пораненим рани обробляли хірургічно та вводили антибіотики. Для дослідження було відібрано 77 штамів мікроорганізмів, виділених з бойових ран і відомих здатністю викликати нозокоміальні запальні ускладнення. Серед них 41 штам *Acinetobacter* spp., 13 штамів *Pseudomonas* spp., 8 представників родини *Enterobacteriaceae*, 9 штамів *Enterococcus* spp. та 6 штамів стафілококів, з числа яких 2 віднесено до виду *S.aureus*.

Здатність до утворення біоплівок визначали методом утворення біоплівок у 96-лунковому планшеті з подальшим фарбуванням кристаллвіолетом та визначенням оптичної щільності (OD) на апараті Humanreader (Німеччина) при довжині хвилі 620 нм. OD для кожного штаму визначати у трьох повторах, результати усереднювали. Штам вважався позитивним щодо плівкоутворення, якщо його середнє значення OD було більшим середньої оптичної щільності негативного контролю збільшеної на 3 стандартних відхилення (SD) (OD негативного контролю + (3*SD негативного контролю). OD негативного контролю розраховували для кожного планшета окремо. Інтенсивність плівкоутворення оцінювали за величиною відносного показника оптичної щільності.

Статистична обробка отриманих результатів проведена з використанням таблиць Excel Microsoft Office. Для непараметричних величин порівняння проводили за показником χ^2 , значення $p < 0,005$ вважали статистично значимим.

Результати. Обговорення

Дослідженнями з використанням методів електронної мікроскопії доведена ефективність та достовірність статичної моделі визначення здатності бактерій до біоплівкоутворення [8]. У більшості опублікованих результатів подібних досліджень увагу зосереджували на мікроорганізмах, що колонізують хронічні рани, наприклад при цукровому діабеті [9]. В цій роботі здатність утворювати біоплівки визначалась у бактерій, що колонізують та інфікують бойові пошкодження кісток та м'яких тканин. Певно, що ці рани не є хронічними, але зважаючи на їх велику площу та ступінь руйнування тканин, загоєння може тривати декілька тижнів. На фоні агресивного хірургічного лікування та протимікробної терапії, властивість бактерії утворювати біоплівки може пояснити їх здатність існувати та розмножуватись у ранах впритул до моменту закриття ран.

У відповідності до обраних критеріїв з числа сорока семи досліджених ізолятів 57 (74%) були визнані позитивними за ознакою біоплівкоутворення. Пунктирна лінія на діаграмах (рис. 1) визначає найменше значення OD, вище якого штам вважався позитивним, щодо біоплівкоутворення.



Рис. 1. Інтенсивність плівкоутворення штамми *Pseudomonas* spp.

Утворення біоплівок окремими ізолятами є гетерогенною ознакою між видами та окремими штамми всередині одного виду. Усі досліджені штамми псевдомонад утворювали біоплівки. Середній показник інтенсивності утвореної біоплівки становив $0,29 \pm 0,14$. Із 41 дослідженого штаму акінетобактерій утворювали біоплівки 30 (73%). Середній показник інтенсивності плівкоутворення був меншим, ніж для псевдомонад, і становив $0,19 \pm 0,16$ (рис. 2).

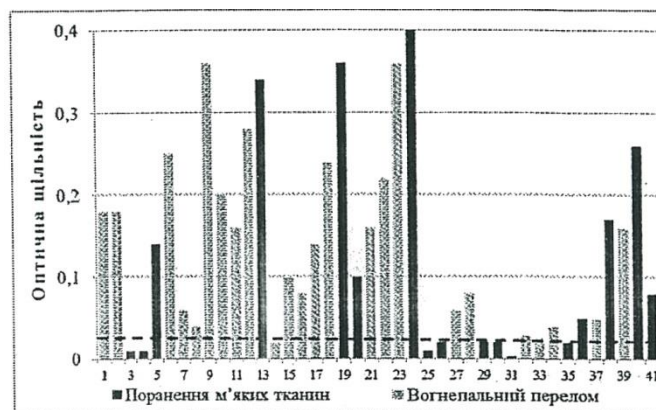


Рис. 2. Інтенсивність плівкоутворення штамми *Acinetobacter* spp.

Серед грамнегативних паличок найменш здатними до утворення щільних біоплівок виявились ентеробактерії (62,5% досліджених штамів) (рис. 3). Середній показник інтенсивності плівкоутворення для них не перевищував $0,1 \pm 0,06$. Слід підкреслити, що за частотою виділення з ран вони також займали останнє місце.

До плівкоутворюючих відносились 66% виділених штамів *Enterococcus* spp. (середній показник інтенсивності плівкоутворення $0,15 \pm 0,1$) (рис. 4). Із числа стафілококів, що не коагулюють плазму, половина штамів належала до плівкоутворюючих. Здатності до плівкоутворення не виявили 2 штами золотистих стафілококів.

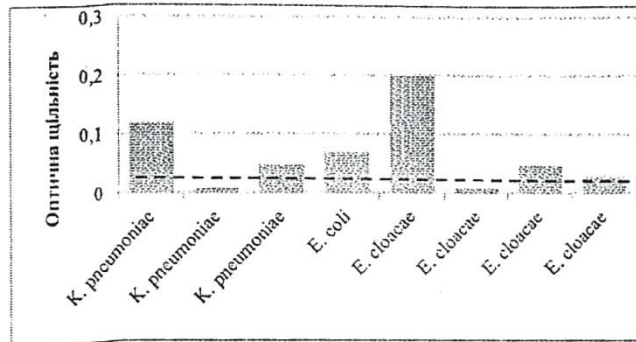


Рис. 3. Інтенсивність плівкоутворення представниками родини Enterobacteriaceae.



Рис. 4. Інтенсивність плівкоутворення штамми Enterococcus spp.

Показник інтенсивність утворення біоплівки відбиває ступінь вираженості цієї ознаки у кожного штаму. Найбільше штамів-біоплівкоутворювачів виявилось серед псевдомонад. Слідом за ними розташувалися акинетобактерії. Незважаючи на те, що кількість акинетобактерій позитивних за ознакою плівкоутворення відносно велика, притаманна їм інтенсивність плівкоутворення значно нижча, ніж у псевдомонад. Ще меншим показник інтенсивності плівкоутворення був у інших досліджених видів мікроорганізмів.

Виділення мікроорганізмів відбувалось з 2 принципово різних типів бойових пошкоджень. Статистично більше плівкоутворюючих штамів виділено з поранень, які супроводжувались переломом кісток, ніж з ізольованих поранень м'яких тканин, 63 штами (81%) та 14 (19%) відповідно. Значення χ^2 склало 3,841, $p < 0,005$. Для утворення бактеріальної біоплівки необхідною умовою є наявність твердого субстрату, найкраще на поділі рідкої та сухої фаз. Наявність кісткових фрагментів серед м'яких тканин та ексудату повністю відповідає цим вимогам, та сприяє існуванню бактерій у вигляді біоплівок.

На рис. 5 наведено співставлення частоти виділення штамів, що формують біоплівку, та штамів негативних за цією ознакою. Здатність до плівкоутворення забезпечує бактеріям умови для виживання у рані. Вираженість та поширеність цієї властивості серед акинетобактерій та псевдомонад, певно, зумовлюють домінування цих бактерій у спектрі ранових ізолятів та можливість їх довготривалого перебування у рані.

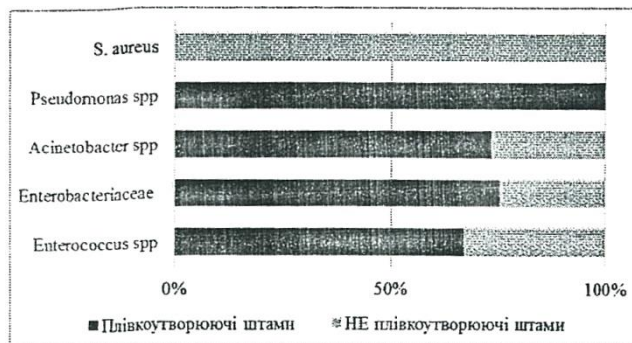


Рис. 5. Співвідношення плівкоутворюючих та неплівкоутворюючих штамів у загальній кількості виділених ізолятів.

Обмеженням дослідження є відсутність співставлення або порівняння окремих штамів, що послідовно але в різні терміни ранозагоювання виділені від одного хворого з метою довести чи спростувати їх ідентичність. Це не дає нам можливості стверджувати, що завдяки існуванню у біоплівці відбувається персистенція одного і того ж штаму мікроорганізму у рані протягом всього періоду загоєння. Однак, очевидно, що здатність до утворення біоплівок притаманна не лише бактеріям, що супроводжують чи спричиняють хронічні інфекційні процеси. Гострі масивні пошкодження тканин, що потребують тривалого загоєння також заселяються мікроорганізмами здатними утворювати біоплівки.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Встановлено, що серед мікроорганізмів, які виділяються з мінно-вибухових та вогнепальних бойових ран, переважна більшість володіє здатністю до плівкоутворення. Проте, вираженість цієї ознаки має суттєві міжвидові та міжштамові відмінності.

2. Домінування плівкоутворюючих штамів бактерій у загальному спектрі ранових ізолятів обумовлене вищою здатністю до виживання мікроорганізмів у складі біоплівок в умовах рани, у порівнянні з планктонними формами мікроорганізмів.

3. Пошкодження, що утримують твердий субстрат (фрагменти кісток), у більшій мірі схильні до контамінації плівкоутворюючими штамми мікроорганізмів, у порівнянні з пошкодженнями виключно м'яких тканин.

У перспективі необхідно провести дослідження здатності до плівкоутворення мікрофлори, виділеної у різні терміни в динаміці ранозагоєння. Являє інтерес визначення взаємозв'язку цієї здатності з рівнем чутливості до антибіотиків.

Список літератури

1. Biofilms in chronic wounds /G.A.James, E.Swogger, R.Wolcott [etal.] //Wound Repair Regen.- 2008.- Vol.16.- P.-37- 44.
2. Costerton J.W. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections /J.W. Costerton, P.S. Stewart, E.P. Greenberg //Science.- 1999.- Vol.284.- P.1318-1322.
3. Edwards R. Bacteria and wound healing / R. Edwards, K.G. Harding //Curr. Opin. Infect. Dis.- 2004,- Vol.17.- P.91 -96.

4. McGrath E.J. Nosocomial infections and multidrug-resistant bacterial organisms in the pediatric intensive care unit/E.J. McGrath, B.I. Asmar// Indian J. Pediatr.- 2011.- Vol.78.-P. 176-184.

5. Orthopaedic-implant infections by Escherichia coli: molecular and phenotypic analysis of the causative strains /L.Cremet, S.Corvec, P.Berner [et al.] //J. Infect.- 2012.- Vol.64.- P.169-175.

6. Pathogens present in acute mangled extremities from Afghanistan and subsequent pathogen recovery / T.E.Wallum, H.C.Yun, E.A.Rini [etal.]// Mil. Med.- 2015.-Vol. 180,- P.97-103.

7. Percival S.L. Biofilms and their potential role in wound healing /S.L. Percival //Wounds.- 2004.- Vol.16,- P.234- 240.

8. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci /S.Stepanovic, G.D.Bonaventura, D.Vukovic [et al.] // APMIS.- 2007.- Vol.9.- P.891-899.

9. The importance of a multifaceted approach to characterizing the microbial flora of chronic wounds /A.Han, J.M.Zenilman, J.H.Melendez [et al.] //Wound Repair. Regen.- 2011.- Vol.9.- P.532-541.

10. The Pseudomonas aeruginosa transcriptome in planktonic cultures and static biofilms using RNA sequencing /A.Dotsch, D.Eckweiler, M.Schniederjans [et al.] //PLoS One.- 2012.-Vol.7.- P.31092.

Кондратюк В.Н., Ковальчук В.П., Безулый Н.Н., Фомин А.А.
ХАРАКТЕРИСТИКА СПОСОБНОСТИ К ОБРАЗОВАНИЮ
БИОПЛЕНОК МИКРОФЛОРЫ ОГНЕСТРЕЛЬНЫХ И МИННО-
ВЗРЫВНЫХ РАН КОНЕЧНОСТЕЙ

Резюме. *Боевые раны характеризуются длительным течением, осложняющимся гнойно-воспалительными процессами. Установлено, что хронические инфекционные осложнения вызывают бактерии, обладающие способностью к пленкообразованию. Целью исследования было оценить способность к образованию биопленок микрофлоры, выделенной из боевых ран. Среди семидесяти семи изолятов 57 (74%) проявили способность к биопленкообразованию. Все штаммы псевдомонад, 30 штаммов акинетобактерий (73%), 5 штаммов (66%) Enterococcus spp образовывали биопленки. Энтеробактерии и стафилококки оказались слабыми биопленкообразователями.*

Ключевые слова: боевые раны, микрофлора, бактериальная биопленка.

Kondratiuk V. M., Kovalchuk V. P., Bezuliy M. M., Fomin O. O.
CHARACTERISTICS OF THE ABILITY TO BIOFILM FORMATION
AMONG MICROORGANISMS ISOLATED FROM GUNSHOT AND BLAST
WOUNDS OF EXTREMITIES

Summary. *Combat wounds are characterized by long healing progress, which is complicated by inflammatory processes. Established that chronic infectious complications caused by bacteria can form biofilms. The aim of study was to evaluate the ability to form biofilms microflora released from combat wounds. Among the*

seventy-seven isolates 57 (74%) found the ability to biofilm formation. All isolated strains of Pseudomonas, thirty Akinetes bacteria strains (73%), 5 strains (66%>) Enterococcus spp formed biofilms. Enterobacteria and staphylococcus proved the weakest biofilm-forming.

Key words: *battle wounds, microbial flora, biofilm.*

*Рецензент - д.мед.н., проф. Желіба М.Д.
Стаття надійшла до редакції: 13.10.2015р.*

*Кондратюк Вячеслав Миколайович - к.мед.н., начальник відділення анестезіології, ВМКЦ ЦР Вінниця; +38 098 27-71-618;
kondratuk2007@gmail.com*

Ковальчук Валентин Петрович - д.мед.н., професор, професор кафедри мікробіології, вірусології та імунології ВНМУ ім.М.І.Пирогова; +38 097 41-11-351; valentinkovaichuk2015@gmail.com

Безулий Микола Миколайович - начальник клініки лабораторної діагностики ВМКЦ ЦР Вінниця; valentinkovalchuk2015@gmail.com

Фомін Олександр Олександрович - начальник відділення травматології ВМКЦ ЦР Вінниця; +38 063 254-17-03

© Фомін О.О., Фоміна Н.С., Кондратюк В.М.

УДК: 579.61:616-001.4:355.422

Фомін О.О., Фоміна Н.С., Кондратюк В.М.

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова, кафедра мікробіології, вірусології та імунології (вуя. Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ МІКРОФЛОРИ, ВИДІЛЕНОЇ З РАН ПОСТРАЖДАЛИХ В ЗОНІ АТО

Резюме. *В статті приведені результати вивчення біологічних властивостей мікроорганізмів, виділених від постраждалих* з вибуховими та мінно-вибуховими травмами. Досліджено чутливість виділених штамів грамнегативних мікроорганізмів до антибіотиків та антисептиків декасану, мірамістину, хлоргексидину біглюконату, повідон-йоду. Показаний високий ступінь резистентності виділених штамів до більшості антибактеріальних препаратів. Доведений високий ступінь чутливості нефер-ментуючих грамнегативних збудників до антисептиків з числа поверхнево-активних речовин.*

Ключові слова: *мікрофлора гнійних ран, антибіотики, антисептики, чутливість.*

Вступ

У період проведення антитерористичної операції (АТО) на сході України, основним завданням військово-польової хірургії стала ліквідація наслідків вогнепальних ушкоджень, мінно-вибухових травм, обширних травм, поранень, тощо.

Постраждалі хірургічного профілю в сучасних воєнних конфліктах складають близько 75% від загальної величини санітарних втрат. Основне місце в структурі хірургічних ушкоджень займають постраждалі з пораненнями кінцівок, кількість яких коливається в межах від 52,5% до 75% [1,2]. Постійне удосконалення бойової зброї, зростання кінетичної енергії ранових снарядів призвели до змін характеру вогнепальних поранень. Особливістю таких ран є обширне ураження м'яких тканин, масивне забруднення ран, наявність вторинних інородних тіл, уламків ранового снаряду, порушення макро- та мікроциркуляції, значна травматичність поранень м'яких тканин з дефектом шкіри, підшкірної клітковини, м'язів вимагає тривалого стаціонарного лікування для загоєння ран, проведення чисельних повторних оперативних втручань, відтермінує остеосинтез переломів, приводить до гнійних ускладнень.

Інфекційні ускладнення вогнепальних поранень під час проведення військових дій зустрічались завжди, погіршували перебіг та наслідки поранень. Так, частота гнійних ускладнень в першу світову війну коливалась в межах 45-60%, під час бойових дій біля озера Хасан - 45-50%, під час Другої світової війни - 18%. В Україні, під час проведення антитерористичної операції кількість нагноєних ускладнень складає 6-18% [3].

В основі військової доктрини лежить твердження, що будь-яка вогнепальна рана є мікробно забрудненою. Резидентна мікрофлора шкіри в

асоціації з умовно-патогенними мікроорганізмами проникає вглиб вогнепальної рани. Некротичні вогнища тканин, які знаходяться в рані та навколо неї є благоприємним поживним середовищем для розмноження мікроорганізмів. Циркуляція антибіотикорезистентних штамів мікробів, зниження імунологічної реактивності організму, фіброзні зміни в зоні та на дні рани, призводять до порушення мікроциркуляції наслідком чого є зниження репаративних процесів в рані, подовження термінів епітелізації та розвиток інфекційного процесу.

Щодо сучасного спектру мікроорганізмів, які викликають нагноєння вогнепальної рани, існують різні погляди науковців. Аналіз літературних джерел показав, що мікробний пейзаж представлений в переважній більшості золотистим та епідермальними стафілококами, в меншому ступені - кишковою та синегнійною паличками [4]. Дослідження вітчизняних науковців показали превалювання у 60% випадків грампозитивної мікрофлори (*S. aureus*, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*). Грамнегативні мікроорганізми виділяли у 40% поранених (*P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*) [3].

Враховуючи те, що в даному збройному конфлікті превалює вибухова та мінно-вибухова травма, яка супроводжується обширними пораненнями м'яких тканин та забрудненням рани, можна очікувати зміни у спектрі мікроорганізмів ран, поширення антибіотикорезистентних штамів, які призводять до розвитку інфекційних ускладнень ран.

Метою роботи є дослідження до антибіотиків та антисептиків мікрофлори, ізольовано з організму постраждалих з вибуховою, мінно-вибуховою травмою кінцівок.

Матеріали та методи

Нами обстежено 19 постраждалих з вогнепальними осколковими пораненнями різної локалізації внаслідок мінно-вибухового або вибухового механізму. Пацієнти перебували на лікуванні в Військово-медичному клінічному центрі Центрального регіону, яким було надано високоспеціалізовану медичну допомогу. Пораненим попередньо на II-III рівнях надання медичної допомоги виконували хірургічну обробку ран, фасціотомію, позавогнищевий остеосинтез, потужну антибактеріальну терапію (цефтріаксон, метронідазол, лінкоміцин). Під час госпіталізації поранених в клініку поряд з обов'язковими дослідженнями, проводили забір матеріалу з ран для мікробіологічного дослідження.

Від пацієнтів виділили 25 штамів мікроорганізмів за загальноприйнятими методами. Властивості стафілококів ідентифікували за допомогою СТАФІтеста-16 (PLIVA - Lachema a. s. Брно, Чеська республіка). Біохімічні властивості ентеробактерій, неферментуючих грамнегативних бактерій визначали за допомогою ЕНТЕРОтест-24 та НЕФЕРМтест-24 (PLIVA - Lachema a. s. Брно, Чеська республіка), та з використанням автоматичного аналізатора "VITEK-2".

Для ефективної етіотропної протимікробної терапії важливо визначити чутливість виділених патогенних мікроорганізмів до антимікробних засобів.

Чутливість мікроорганізмів до антисептичних препаратів досліджували загальноприйнятим методом подвійних серійних розведень препаратів у рідкому поживному середовищі. Оцінку чутливості мікроорганізмів до

препаратів проводили за показником мінімальної бактерицидної концентрації (МБцК) [Волянський, 2004]. Чутливість виділених культур мікроорганізмів до антибіотиків оксациліну, амоксициліну, амоксициліну/клавуланат, цефотаксиму, цефеперазон/сульбактаму, цефепіму, ципрофлоксацину, моксифлоксацину, доксицикліну, рифампіцину, меропенему, амікацину, гентаміцину, левоміцетину, ертапенему вивчали диско-дифузійним методом у відповідності до Методичних рекомендацій, затверджених наказом N2 167 МОЗ України 05.04.2007 р.

Результати. Обговорення

Результати проведених мікробіологічних досліджень ран постраждалих внаслідок вибухових або мінно-вибухових поранень показали переважання грамнегативної мікрофлори. Дані мікроорганізми виділялися у 65% випадків. На другому місці за чисельністю знаходились грампозитивні коки (22,2%), решта бактерій була представлена грампозитивними паличками (12,8%).

Лідерами серед грамнегативних представників були неферментуючі палички (68%), які у 53% випадків належали до роду *Acinetobacter*, у 15% випадків - до роду *Pseudomonas*. Мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae* виділялися у 10% випадків та віднесені до роду *Enterobacter* (6%), до роду *Klebsiella* (2%), *E. coli* ідентифікована у 2% випадків.

На відміну від літературних даних, грампозитивні коки у постраждалих від мінно-вибухових травм виділялися у 24% посівів, які у 10% випадків належали до роду *Enterococcus*, а у 13% випадків ввійшли до роду *Staphylococcus*. При цьому лише у 2% випадків стафілококи ідентифіковані як *S. aureus*. З числа тих, що не коагулювали плазму, 10 штамів були ідентифіковані як *S. epidermidis* і 3% - як *S. haemolyticus* (рис. 1).

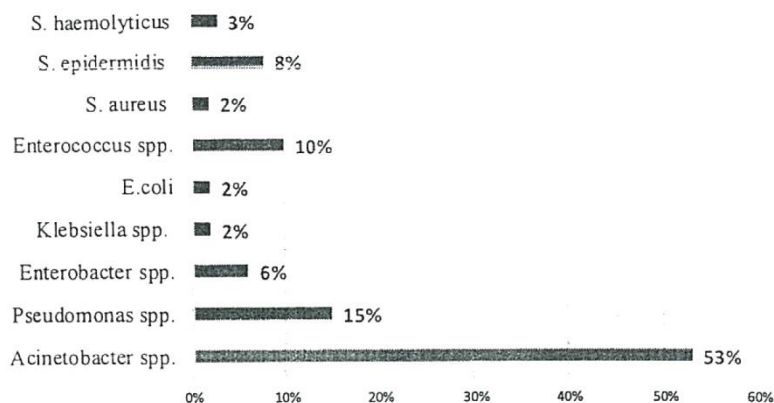


Рис. 1. Мікробіологічна характеристика бактерій, ізольованих з ран.

Оскільки домінуючими мікроорганізмами, які контамінують рани у постраждалих від різного виду вибухового снаряду були грамнегативні бактерії, цікаво було дослідити чутливість виділених ізолятів до антибіотиків та антисептиків.

Аналіз отриманих даних щодо чутливості грамнегативних мікроорганізмів до антибіотиків показав наступні результати. Представники *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae* виявились резистентними до оксациліну, амоксициліну, і до захищених пеніцилінів амоксициліну/клавуланату. Дані представники показали стійкість. Щодо

антибіотиків цефалоспоринового ряду всі грамнегативні штами були високочутливими до цефоперазону/сульбактаму. До препарату цефепім, який широко використовують для лікування нагноєнь ран, чутливими виявились псевдомонади та клебсієли. Дані мікроорганізми були чутливими до ципрофлоксацину, моксифлоксацину.

Цікавим є висока чутливість ацинетобактерій до доксацикліну, рифампіцину, що зумовлено використанням даних препаратів для лікування гнійних ран. Помірну чутливість до цих препаратів виявили кишкові палички та бактерії роду *Enterobacter*.

До меропенему стійкими виявились бактерії роду *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Escherichia*. Помірну чутливість до даного препарату показали ентеробактер та клебсієли. Ефективним щодо клебсієл виявився сучасний препарат ертапенем, до якого всі інші грамнегативні представники були резистентними. Лише ацинетобактерії проявили помірну чутливість.

Отримані в ході дослідження дані з антибіотикорезистентності дозволяють оцінити застосування антимікробних препаратів в емпіричній терапії. Враховуючи значну кількість мультирезистентних ізолятів, застосування емпіричної терапії необхідно проводити на основі місцевих даних по чутливості флори до антибіотиків.

Враховуючи, що першочерговим завданням щодо профілактики нагноєння ран є своєчасне проведення санації рани з використанням антисептиків, цікавим було виявити чутливість виділених мікроорганізмів до антисептиків Декасану®, мірамістину, хлоргексидину біглюконату, перекису водню та повідонйоду. Вибір антисептиків для дослідження обумовлений частотою використання в клінічній практиці, з урахуванням відмінностей у механізмів дії на мікроорганізми.

Результати визначення чутливості грамнегативних мікроорганізмів до антисептиків подані в табл. 1.

Таблиця 1. Характеристика бактерицидної активності Декасану®, Мірамістину, Хлоргексидину, перекису водню, По- відон-йоду щодо клінічних штамів умовно-патогенних бактерій.

Мікроорганізми	Антисептичний засіб				
	Декасан	Мірамістин	Хлоргексидин	Перекис	Повідон-йод
	МБЦК мкг/мл				
<i>Acinetobacter</i> spp.	41,6± 1,7	37,5±1,6	36,45± 1,4	273±9,8	4657±38,9
<i>Pseudomonas</i> spp.	65,6± 1,7	50 мкг/мл, ріст	62,5±2,8	1878±12,8	8345±23,1
<i>Enterobacter</i> spp.	25±2,2	50 мкг/мл	7,8± 1,1	117±8,9	1860±12,3
<i>Klebsiella</i> spp.	22± 1,2	50 мкг/мл	28,9± 1,2	58,5±5,6	3400±15,3
<i>Escherichia</i> spp.	5,25± 1,3	50 мкг/мл,	30,1± 2,8	58,5±3,7	3987± 11,4

Аналіз результатів з табл. 1 свідчить про високу чутливість грамнегативних мікроорганізмів до лікарських антисептичних препаратів. Так, бактерії роду *Acinetobacter* та *Pseudomonas* були чутливими до декасану® в концентрації 41,6 та 65,6 мкг/мл відповідно. Для хлоргексидину біглюконату концентрація препарату для даних мікроорганізмів коливалась в межах 36,4 - 62,5 мкг/мл. Щодо мірамістину, псевдомонади виявили більшу стійкість, ніж

ацинетобактерії. Готова лікарська форма препарату містить 0,01% діючої речовини. Вже у першому розведенні препарату в поживному середовищі (50 мкг/мл) бактерицидного ефекту щодо псевдомонад не спостерігали. Резистентними виявились ацинетобактерії та синегнійна паличка до перекису водню та повідон-йоду. Для інактивації даних неферментуючих грамнегативних мікроорганізмів необхідна концентрація перекису водню була від 6 разів (для *Acinetobacter* spp.) до 28 разів (для *Pseudomonas* spp.) вищою, ніж концентрація декасану®, повідон йоду - більш як в 100 разів. Щодо чутливості інших грамнегативних мікроорганізмів до антисептиків спостерігалась така ж тенденція. Так, високу чутливість бактерії роду *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia* показали до декасану. Причому, для знищення кишкової палички достатньо середньої концентрації декасану 5,25 мкг/мл, що є в 10 разів нижчою, ніж бактерицидна концентрація для мірамістину, та в 11 разів нижчою, ніж для МБЦК хлоргексидину. Найвищу стійкість дані мікроорганізми показали до повідон- йоду. Так, МБЦК даного препарату для кишкової палички сягала майже 4000 мкг/мл.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. В етіологічній структурі збудників, виділених з обширних ран хворих постраждалих внаслідок вибухових або мінно-вибухових травм домінують грамнегативні мікроорганізми (65%), лідерами серед яких є бактерії роду *Acinetobacter* (53%), *Pseudomonas* (15%).

2. Виділені мікроорганізми характеризуються високим ступенем резистентності до більшості антибактеріальних препаратів, що має бути враховано при лікуванні. Ефективним щодо виділених грамнегативних мікроорганізмів є цефалоспоринові препарати. *Клебсієли* показали чутливість до ципрофлоксацину, моксіфлоксацину, ертапенему. В умовах мультирезистентності виділених ізолятів ацинетобактерій важливим є встановлена чутливість даних мікроорганізмів до доксицикліну і рифампіцину, які можуть бути використані як препарати резерву.

3. Всі клінічні ізоляти мають високу чутливість до лікарських антисептичних препаратів декасану, хлоргексидину біглюконату. Найвищу чутливість грамнегативна мікрофлора виявила до антисептика декасан, що необхідно враховувати під час проведення санації ран.

У перспективі доцільно продовжити дослідження чутливості до антибіотиків та антисептиків мікрофлори, ізольованої з організму постраждалих з вибуховою, мінно-вибуховою травмою для підвищення ефективності лікування.

Список літератури

1. Король С.О. Використання сучасних методів спеціалізованого травматологічного лікування поранених з вогнепальними переломами довгих кісток (IV рівень надання медичної допомоги)/С.О. Король, А.А.Беспаленко //Літопис травматол. та ортопедії,- 2015.- №1-2 (31-32).- С.28.
2. Лакша А.М. Лікування постраждалих з вогнепальними пораненнями м'яких тканин кінцівок /А.М.Лакша, Д.В.Лось//Літопис травматол. та ортопедії.- 2015.- №1 -2 (31-32).- С.31.

3. Лакша А. М. Оптимізація лікування поранених з вогнепальними ушкодженнями кінцівок /А.М.Лакша // Наука і практика: міжвідомчий мед. журнал,- 2015.- №1-2 (5-6).- С.35.
4. Аль-Нозейли Халед Али Микрофлора огнестрельных ран: влияние на исход лечения /Аль-Нозейли Халед Али, Г.Ш.Голубев, В.Г.Голубев //Гений Ортопедии.- 2010.- №2.- С.60.

Фомин А.А., Фомина Н.С., Кондратюк В.Н.

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРОФЛОРЫ, КОТОРАЯ БЫЛА ВЫДЕЛЕНА ИЗ РАН ПОСТРАДАВШИХ В ЗОНЕ АТО

Резюме. В статье приведены результаты изучения биологических свойств микроорганизмов, выделенных от пострадавших с взрывными и минно-взрывными травмами. Исследована чувствительность выделенных штаммов грамотрицательных микроорганизмов к антибиотикам и антисептикам декасану, мирамистину, хлоргексидину биглюконату, повидон-йоду. Показана высокая степень резистентности выделенных штаммов к большинству антибактериальных препаратов. Доведена высокая степень чувствительности неферментирующих грамотрицательных возбудителей к антисептикам из числа поверхностно-активных веществ.

Ключевые слова: Микрофлора гнойных ран, антибиотики, антисептики, чувствительность.

Fomin O.O., Fomina N.S., Kondratjuk

MICROFLORA ISOLATED FROM WOUNDS OF INJURED CHARACTERISTICS OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF MIKROFLOR ISOLATED FROM WOUNDS JF INJURED VICTIMS IN ATO ZONE

Summary. There is results study of biological properties of microorganisms, which were isolated from victims with blast and mineblast injuri in this article. Susceptibility of gram-negative isolates to antibiotics and antiseptics decasan, miramistin, chlorhexidine bigluconate, povidone-iodine was studied. High level resistance to the most antimicrobial preparations w/as detected. But nonfermentative gram-negative pathogens were high susceptible to surface-active antiseptics.

Key words: Microflora of purulent wounds, antibiotics, antiseptics, susceptibility.

Рецензент - д.мед.н., проф. Ковальчук В.П.

Стаття надійшла до редакції 2.11.2015 р.

Фомина Надія Сергіївна - к.мед.н, доцент кафедри мікробіології, вірусології, імунології ВНМУ імені М. І. Пирогова; +38 063 25-41-702; Fomina.ns@mail.ru
Фомін Олександр Олександрович - Начальник відділення травматології ВМКЦ ЦР Вінниця; +38 0432 53-22-11

Кондратюк Вячеслав Миколайович - к.мед.н., начальник відділення анестезіології; +38 098 27-71-618; kondratuk2007@gmail.com

BIOMEDICAL AND BIOSOCIAL ANTHROPOLOGY

Official Journal of the International Academy of Integrative Anthropology

Founded by the International Academy of Integrative Anthropology and Vinnytsia National Pyrogov Memorial Medical University in 2003

Періодичність виходу журналу 2 рази на рік № 26,2016

Фахове наукове видання України у галузі медичних наук

Згідно переліку наукових фахових видань України, затвердженого наказом МОН України № 1328 від 21.12.2015 р. (додаток 8)

Фахове наукове видання України у галузі біологічних наук (за групами спеціальностей 14.01.00-14.03.00)

Згідно переліку наукових фахових видань України, затвердженого Наказом МОН України №747 від 13.07.2015 р. (додаток 17)

Editor-in-chief - *Moroz V.M. (Vinnytsia)*
First assistant editor - *Serheta I.V. (Vinnytsia)*
Secretary - *Datsenko G.V. (Vinnytsia)*

Editorial board:

Aleksina L.A. (Saint-Petersburg), Vasilenko D.A. (Kyiv), Volkov K.S. (Ternopil), Gunas I.V. (Vinnytsia), Guminskiy Yu. I. (Vinnytsia), Dgebuadze M.A. (Tbilisi), Karimov M.K. (Hudzhand), Kirilenko V.A. (Vinnytsia), Kornetov N. A. (Tomsk), Kostyuk G.Ya. (Vinnytsia), Krivko Yu. Ya. (Lviv), Maslovskiy S. Yu. (Kharkiv), Mostoviy Yu.M. (Vinnytsia), Nikolaev V.G. (Krasnoyarsk), Petrushenko V. V. (Vinnytsia), Pogorilyi V. V. (Vinnytsia), Sarafinyuk L.A. (Vinnytsia), Stechenko L. O. (Kyiv), Tegako L. I. (Minsk), Halberg F. (Minneapolis), Chaikovskiy Yu. B. (Kyiv), Cherkasov V. G. (Kyiv), Shepitko V.I. (Poltava), Shutz Yu. (Munster), Yacenko V.P. (Kyiv)

Editorial council:

Kostinskiy G.B. (Kyiv), Nikityuk D.B. (Moscow), Masna Z.Z. (Lviv), Mnihovich M.V. (Moscow), Pishak V.P. (Chernivci), Puchlik B.M. (Vinnytsia), Sak N.M. (Kharkiv), Talko V.I. (Kyiv), Topka E.G. (Dnipropetrovsk), Piskun R. P. (Vinnytsia), Furman Yu.M. (Vinnytsia)

Адреса редакції та видавця:

вул. Пирогова, 56, м.Вінниця-18, Україна, 21018

Тел.: +38(0432)439411

Факс.: +38 (0432)465530

E-mail: datsenko@vnmu.vinnica.ua

Address editors and publisher:

Pyrogov Str. 56,

Vinnytsia, Ukraine - 21018

Tel.: +38(0432)439411

Fax: +38 (0432) 465530

E-mail: datsenko@vnmu.vinnica.ua

Технічний редактор Л.О. Клопотовська

Художній редактор Л.М. Слободянюк

Технічний редактор О.П. Віштак

Здано до набору 11.04.2016 р. Підписано до друку 29.04.2016 р. Затверджено Вченою Радою ВНМУ ім. М.І. Пирогова, протокол №10 від 28.04.16 р. Формат 84x120 1/16. Друк офсетний. Замовлення № 164. Тираж 600. Вінниця. Друкарня ВНМУ, Пирогова, 56

© Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова, (м.Вінниця), 2011 Biomedical and Biosocial Anthropology Рецензуемий журнал
Свідоцтво про державну реєстрацію КВ №7902 від 18.09.2003