

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2020-24(1)-12

УДК: 615.28:579.61/.84

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ КОМПОЗИЦІЇ З ПРОЛОНГОВАНОЮ АНТИСЕПТИЧНОЮ ДІЄЮ ЩОДО ПЛАНКТОННОЇ ТА ПЛІВКОВОЇ ФОРМИ КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ НЕФЕРМЕНТУЮЧИХ ГРАМНЕГАТИВНИХ БАКТЕРІЙ

Назарчук О.А.¹, Нагайчук В.І.¹, Римша О.В.¹, Палій В.Г.¹, Вовк І.М.¹, Бобир Н.А.², Прокопчук З.М.¹, Стукан О.К.¹

¹Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018),

²Київський міжнародний університет (вул. Львівська, 49, м. Київ, Україна, 03179)

Відповідальний за листування:
e-mail: nazarchukoa@gmail.com

Статтю отримано 26 листопада 2019 р.; прийнято до друку 24 грудня 2019 р.

Анотація. Проблема лікування опікових ран тісно пов'язана зі специфічністю спектру мікроорганізмів, які погіршують ранозагоєння у цієї категорії хворих. Загальновизнаною тривожною тенденцією останніх років є істотне зростання в етіологічній структурі ранової інфекції, як за частотою виділення, так і за важкістю перебігу та проблемним вибором тактики лікування при інфікуванні полірезистентними штамми *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*. Метою нашої роботи було створення моделі біоплівки, яка утворюється бактеріями на рановій поверхні та в порівняльному дослідженні вивчити чутливість планктонних та плівкових форм неферментуючих грамнегативних бактерій до композиції на основі декаметоксину з пролонгованою антисептичною дією. Для встановлення впливу антисептичної композиції на планктонні та плівкові форми бактерій використовували метод двократних послідовних розведень. Результати порівняльного дослідження активності антисептичної композиції з декаметоксином планктонних і біоплівкових форм штамів НФГБ свідчать, що у складі бактеріальної плівки бактерії більш стійкі до дії препаратів, ніж у планктонній формі. Плівкові форми *A. baumannii* та *B. cereus* володіють чутливістю до декаметоксину в концентрації $13,6 \pm 1,95$ мкг/мл та $15,6 \pm 0$ мкг/мл відповідно. Плівкові форми *P. aeruginosa* мають вищий ступінь стійкості до досліджуваної композиції з декаметоксином (МБЧК $137,5 \pm 30,6$ мкг/мл). Знезараження планктонної форми НФГБ відбувається в 10 разів швидше, ніж плівкової форми, знищення якої досягається при тривалій експозиції 120-150 хвилин.

Ключові слова: опікова рана, біоплівки, неферментуючі грамнегативні бактерії, полімерна антимікробна композиція.

Вступ

Ключовою проблемою в комбустіології є інфекційні ускладнення. За даними наукової літератури, наявність опікової рани створює сприятливі умови для виникнення інфекційних ускладнень, які становлять загрозу для ефективного лікування хворих. Інфекційні ускладнення в комбустіологічній практиці є причиною високої летальності пацієнтів [9].

Проблема лікування опікових ран тісно пов'язана зі специфічністю спектру мікроорганізмів, які погіршують ранозагоєння у цієї категорії хворих. Загальновизнаною тривожною тенденцією останніх років є істотне зростання у етіологічній структурі ранової інфекції, як за частотою виділення, так і за важкістю перебігу та проблемним вибором тактики лікування при виділенні полірезистентних штамів *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* та ін. [3, 4, 10].

Слід зазначити, що в процесі вивчення співіснування мікроорганізмів в різних біотопах тіла людини встановлено здатність останніх утворювати складні біоструктури у вигляді плівок. Сьогодні вважають, що переважна більшість ускладнень при інфекційних захворюваннях асоційована зі здатністю збудників формувати біоплівку, у стані якої мікроорганізми стають стійкішими до дії фізичних, біохімічних чинників, набуваючи антибіотикорезистентність [1, 2, 8]. За даними Американсь-

кого центру контролю і профілактики захворювань (CDC) до 65% всіх бактеріальних інфекцій перебігають з утворенням біоплівок [9].

Бактерії, в складі біоплівки, краще адаптуються до впливу антибіотиків, ніж планктонна форма бактерій. Здатні витримувати концентрації антибіотиків, які більш ніж в 100 разів перевищують бактерицидну концентрацію для планктонної форми бактерій. Це призводить до того, що антибіотики знищують тільки поверхнево розташовані клітини мікроорганізмів. Бактеріальна колонізація, неспроможність місцевих факторів імунного захисту, особливий режим існування мікроорганізмів у біоплівці пояснюють невдачі у лікуванні цих інфекцій системним призначенням антибіотиків [3, 7, 8].

У таких умовах існує необхідність вдосконалення методологічних підходів дослідження для розширення уявлень про біологічні властивості мікроорганізмів в складі біоплівок. Створення адекватних моделей бактеріальних плівок відповідно до природи мікробного ускладнення або структури об'єкту, на якому утворюється плівка (шкіра, ранова поверхня, імплантати, поверхня катетерів, ендотрахеальної трубки, тощо) дозволить вивчити чутливість плівкових форм мікроорганізмів до антимікробних препаратів з метою корекції етіотропної терапії мікробних ускладнень, вибору оптимальних пре-

паратів для місцевої терапії, ефективних терапевтичних доз для системного лікування.

Мета - створення моделі біоплівки, яка утворюється бактеріями на рановій поверхні та дослідити чутливість планктонних і плівкових форм неферментуючих грамнегативних бактерій до композиції на основі декаметоксину з пролонгованою антисептичною дією.

Матеріали та методи

У роботі вивчали ефективність знезаражуючої дії антимікробної композиції на основі декаметоксину на біоплівкові та планктонні клінічні штами *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, виділені від хворих з ускладненнями опікової хвороби, які знаходились на лікуванні в Клінічному Центрі термічної травми та пластичної хірургії Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М.І. Пирогова.

Серед виділених штамів неферментуючих грамнегативних бактерій (НФГБ) були відібрані ізоляти, які характеризувались множинною антибіотикорезистентністю, в тому числі стійкістю до групи антипсевдомонадних антибіотиків, в загальній кількості 10 штамів (*P. aeruginosa* - 15 штамів, *A. baumannii* - 14 штамів, *B. cepacia* - 1 штам).

У дослідженні використовували антисептичну композицію, що містила 0,1% декаметоксину (катіонний детергент із групи четвертинних амонієвих сполук із широким спектром антимікробної дії), природні біополімери (натрієва сіль карбоксиметилкрохмалю 0,5 мас%; оксигетилцелюлоза - 1,0 мас%); полівінілацетатна дисперсія (0,6 мас%) та стерильну дистильовану воду (до 100). Дана антимікробна композиція сприяє утворенню механічного бар'єру на рановій поверхні, забезпечуючи поступове дозоване вивільнення антисептика декаметоксину.

З метою створення моделі біоплівки, яка утворюється бактеріями на рановій поверхні використовували тест-об'єкти, виготовлені із стерильної ксеношкіри, яку застосовують як природне покриття післяопераційних ран при опіковій травмі. З метою утворення біоплівок на поверхні ксеношкіри стерильні фрагменти діаметром 5 мм занурювали у м'ясо-пептонний бульйон, інокулювали зависом однієї з досліджуваних культур мікроорганізмів, в концентрації 10^8 КУО/мл (оптична щільність за МакФарландом 0,5 McF), термостатували протягом 2-х діб.

Антимікробну дію антисептичної композиції досліджували як на планктонних, так і на плівкових формах мікроорганізмів. Для визначення мінімальних інгібуючих та мінімальних бактерицидних концентрацій (МІК та МБЦК) антисептика використовували метод стандартних двократних серійних розведень. Для визначення відповідних концентрацій антисептика тест-зразки ксеношкіри з утвореними на їх поверхні плівками бактерій чи бактеріальну суспензію з планктонною формою бактерій вносили в рідкі поживні середовища, які містили

різні концентрації антисептика та врахували результат за показниками МІК та МБЦК.

Ефективність дії досліджуваної антисептичної композиції на основі декаметоксину на плівкові та планктонні форми НФГБ визначали за тривалістю експозиції знезаражування тест-об'єктів, вкритих бактеріальною біоплівкою, при зануренні в розчин композиції. Паралельно досліджували швидкість загибелі планктонної форми мікроорганізмів при внесенні їх суспензії в розчин антисептика. Для цього в розчин антисептика в кількості 5 мл вносили 0,1 мл суспензії мікроорганізмів в концентрації 10^9 - 10^{10} КУО/мл. Для визначення швидкості знезараження планктонних форм кожні 5 хвилин проводили висів вмісту пробірки на м'ясо-пептонний агар, починаючи від п'ятихвилинної експозиції і завершуючи 90-хвилинною експозицією. Мінімальну експозицію, необхідну для повного знищення бактерій в розчині антисептика, визначали як час знезараження планктонних форм.

Для визначення швидкості знищення плівкових форм бактерій шматочки ксеношкіри із біоплівками занурювали в розчин антисептика, витримували від 15 хвилин до 3 годин. Для контролю ефективності знезараження кожні 15 хвилин оброблені тест-об'єкти висівали у м'ясо-пептонний бульйон (5 мл) після попереднього відмивання від залишків антимікробного препарату в стерильному фізіологічному розчині. Ефективність знезараження плівкових форм визначали за відсутністю ознак росту в середовищах у присутності оброблених об'єктів з наступним контрольним пересіванням вмісту. Мінімальну експозицію, необхідну для повного знезараження, порівнювали з часом знезараження планктонних форм.

Результати. Обговорення

Аналіз одержаних даних свідчить про істотні відмінності в чутливості до антисептичної композиції у планктонних форм мікроорганізмів і тих же видів мікроорганізмів у складі біоплівки (табл. 1). Так, бактерицидної дії антисептичної композиції на основі декаметоксину на планктонну форму псевдомонад досягали в концентрації $50,02 \pm 7,64$ мкг/мл, що відповідало даним раніше виконаних досліджень [6]. Повну бактерицидну дію

Таблиця 1. Ефективність антимікробної композиції на основі декаметоксину щодо клінічних штамів мікроорганізмів.

Види мікроорганізмів	Планктонні форми		Плівкові форми	
	Антимікробні концентрації в перерахунку на декаметоксин (мкг/мл)			
	МІК	МБЦК	МІК	МБЦК
<i>P. aeruginosa</i> (n=15)	50,02±7,64	137,5±30,6	100,0±15,3	500,0±0
<i>A. baumannii</i> (n=14)	7,8±0	13,6±1,95	23,5±4,53	35,2±9,83
<i>B. cepacia</i> (n=1)	7,8±0	15,6±0	15,6±0	31,3±0

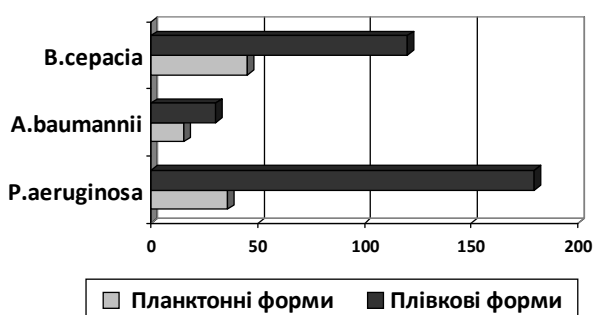


Рис. 1. Знезаражуюча дія антимікробної композиції на клінічні штами НФГБ.

антимікробної композиції на плівкову форму псевдомонад на поверхні зразків ксеношкіри визначали при збільшенні концентрації декаметоксину у складі композиції майже у тричі. Схожі відмінності спостерігали в усіх досліджених випадках з різницею лише у ступені зростання МБЦК.

Клінічні штами *A. baumannii* та *B. ceracia* володіли вищою чутливістю до антимікробної композиції, ніж ізоляти *P. aeruginosa*. Для планктонних форм МІК становила 7,8 мкг/мл щодо ацинетобактерій та бухольдерій, що було в 6,4 рази менше, ніж МІК для штамів синьогнійної палички. Мінімальні бактерицидні концентрації декаметоксину щодо планктонних форм *P. aeruginosa* перевищували відповідні значення щодо *A. baumannii*, *B. ceracia* в 8,8-10,1 разів.

У плівкових форм мікроорганізмів було доведено меншу чутливість до дії антимікробної композиції. Так, для клінічних штамів *P. aeruginosa* визначено МІК та МБЦК декаметоксину (100,0±15,3 та 500,0±0 мкг/мл), які були в 2 та 3,6 разів вищими за відповідні концентрації препарату для планктонних форм. Пригнічення плівкових форм *A. baumannii* реєстрували в присутності мінімальної концентрації антимікробної композиції декаметоксину (23,5±4,53) мкг/мл. Повну загибель плівкових форм *A. baumannii* спостерігали при застосуванні (35,2±9,83) мкг/мл, тобто при концентрації, яка в 2,6 раза перевищувала необхідну для знищення планктонних форм цих бактерій.

Бактеріостатичну та бактерицидну дію антимікробної композиції на плівкову форму *B. ceracia* спостерігали при концентраціях, які перевищували відповідні дані для планктонних форм в 2 рази і становили, відповідно, 15,6 та 31,3 мкг/мл. Таким чином, за отриманими даними протимікробної активності, антисептична композиція, яка містила 1000 мкг/мл декаметоксину, мала достатній резерв антимікробної дії як на планктонну, так і на плівкову форми НФГБ.

Порівняльну оцінку ефективності дії робочих розчинів антисептиків на плівкові і планктонні форми НФГБ визначали за тривалістю експозиції їх бактерицидного впливу на обидві форми мікроорганізмів.

Зразки ксеношкіри, вкриті біоплівкою, утвореною *P.*

aeruginosa, знезаражувались лише після 180 хв. експозиції в антисептичній композиції. Знищення планктонної форми синьогнійної палички відбувалось у 5 разів швидше. Досліджувана композиція виявилась найефективнішою за згубним впливом як на планктонні, так і на плівкові форми *A. baumannii* 15 та 30 хв. відповідно. Не зважаючи на високі показники МІК та МБЦК антимікробної композиції щодо плівкової форми *B. ceracia* для її повного знищення знадобилося 120 хв. Деконтамінація планктонної форми *B. ceracia* за допомогою антимікробної композиції декаметоксину наступала через 45 хв. В цілому, для знезараження плівкових форм мікроорганізмів знадобилось в 2-5 разів більше часу, ніж для знищення планктонних форм мікроорганізмів ($p < 0,001$).

Порівнюючи видові відмінності у чутливості плівкових і планктонних форм мікроорганізмів до антисептичної композиції з декаметоксином, можна говорити про тенденцію значної різниці цих характеристик для різних видів НФГБ. Це може бути обумовлено різницею у швидкості плівкоутворення і особливостями структури біоплівки. У складі біоплівки рівень захисту від дії антисептиків у псевдомонад вищий, ніж у ацинетобактерій та бухольдерій, і у практичних умовах знищення псевдомонад, інкорпорованих у біоплівку, може стати більш складним завданням, ніж знищення такої ж форми інших НФГБ [7].

Наведені вище дані свідчать про високий рівень витривалості неферментуючих бактерій у складі біоплівки до дії антисептиків. Для позбавлення цих мікроорганізмів, інкорпорованих у біоплівку, життєздатності, необхідне застосування високих концентрацій антисептиків при великій експозиції дії, що у практичних умовах здійснити досить важко. Застосування антисептичної композиції для обробки ксеношкіри може забезпечити профілактичний ефект, оскільки впливає на швидкість утворення біоплівки.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Чутливість плівкових форм НФГБ до дії антимікробної композиції декаметоксину значно відрізняється в різних видів умовно-патогенних грамнегативних мікроорганізмів. Плівкові форми *A. baumannii* та *B. ceracia* володіють чутливістю до декаметоксину в концентрації 13,6±1,95 мкг/мл та 15,6±0 мкг/мл відповідно. Плівкові форми *P. aeruginosa* мають вищий ступінь стійкості до досліджуваної композиції з декаметоксином (МБЦК 137,5±30,6 мкг/мл).

2. Біоплівкові форми грамнегативних неферментуючих бактерій характеризуються збільшенням рівня резистентності до антисептичної композиції на основі декаметоксину в 5-10 разів у порівнянні з планктонною формою.

3. Знезараження планктонної форми НФГБ відбувається в 10 разів швидше, ніж плівкової форми, зни-

щення якої досягається при тривалій експозиції 120-150 хвилин.

Необхідне проведення всебічних досліджень щодо

плівкових форм мікроорганізмів, за результатами яких ця композиція з пролонгованою дією, має перспективи поповнити арсенал протимікробних засобів.

Список посилань

1. Балко, О. І., & Авдеева, Л. М. (2013). Етапи біоплівкоутворення *Pseudomonas aeruginosa*. *Ukrainian Food Journal*, 2 (1), 23-26.
2. Заславская, Н. В., Артеменко, Н. К., Чижевская, М. М., & Тец, В. В. (2000). Особенности выживаемости бактерий в микробных сообществах. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*, 2, 19-20.
3. Кондратюк, В. М., Прокопчук, З. М., Буркот, В. М., & Вовк, І. М. (2018). Особливості формування резистентності до антибіотиків у грамнегативних неферментуючих бактерій. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 22 (2), 253-257. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(2)-03.
4. Нагайчук, В. І., Назарчук, О. А., & Палій, І. Г. (2014). До характеристики сучасних інфекційних ускладнень у хворих з опіками. *Український медичний часопис*, 5 (103), 123-126. Взято з http://nbuv.gov.ua/UJRN/UMCh_2014_5_31.
5. Назарчук, О. А., & Нагайчук, В. І. (2015). Оцінка ефективності застосування декасану, декаметоксину та його композицій у пацієнтів з важкою термічною травмою. *Аннали Мечніківського інституту*, 2, 184-190. Взято з http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami_2015_2_35.
6. Палій, Г. К., Назарчук, О. А., Нагайчук, В. І., Вовк, І. М., & Назарчук, Г. Г. (2017). Обґрунтування доцільності застосування декаметоксину при антибіотико- та фагорезистентності псевдомонадної хірургічної інфекції. *Клінічна хірургія*, 9 (905), 64-67. Взято з http://nbuv.gov.ua/UJRN/KIKh_2017_9_20.
7. Трофіменко, Ю. Ю., Макац, Є. Ф., Стукан, О. К., & Буркот, В. М. (2018). Чутливість біоплівкових та планктонних форм неферментуючих бактерій до дії антисептиків. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 22 (2), 293-297. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(2)-12.
8. Чеботарь, И. В. (2012). Антибиотикорезистентность биоплёночных бактерий. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*, 14 (1), 51-58. Взято с <https://cmac-journal.ru/publication/2012/1/cmac-2012-t14-n1-p051/cmac-2012-t14-n1-p051.pdf>.
9. Burn incidence and treatment in the U.S.: 2007 Fact sheet. (2005). American Burn Association. (Accessed 14 Apr 2009). Retrieved from http://www.ameriburn.org/resources_factsheet.php.
10. Nahaichuk, V., & Nazarchuk, O. (2020). Correlation of Susceptibility to Antiseptics With Biofilm-forming Properties in *Acinetobacter baumannii* as a Pathogen of Surgical Infection. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*, 16 (1), 1-5.
11. microbial communities]. *Klinich. mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya - Clinic. microbiology and antimicrobial chemotherapy*, 2, 19-20.
12. Kondratiuk, V. M., Prokopchuk, Z. M., Burkot, V. M., & Vovk, I. M. (2018). Osoblyvosti formuvannia rezystentnosti do antybiotykyv u hramnehatyvykh nefermentuiuchykh bakterii [Features of antibiotic resistance formation in gram-negative non-enzymatic bacteria]. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu - Reports of Vinnytsia National Medical University*, 22 (2), 253-257. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(2)-03.
13. Nahaichuk, V. I., Nazarchuk, O. A., & Paliy, I. H. (2014). Do kharakterystyky suchasnykh infektsiinykh uskladnen u khvorykh z opikamy [Characteristics of modern infectious complications in patients with burns]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys - Ukrainian Medical Journal*, 5 (103), 123-126. Vziato z http://nbuv.gov.ua/UJRN/UMCh_2014_5_31.
14. Nazarchuk, O. A., & Nahaichuk, V. I. (2015). Otsinka efektyvnosti zastosuvannia dekasany, dekametoksynu ta yoho kompozysii u patsiientiv z vazhkoju termichnoiu travmoiu [Evaluation of the effectiveness of the use of decasan, decamethoxin and its composition in patients with severe thermal trauma]. *Annaly Mechnyivskoho instytutu - Annals of the Mechnikov Institute*, 2, 184-190. Vziato z http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami_2015_2_35.
15. Paliy, H. K., Nazarchuk, O. A., Nahaichuk, V. I., Vovk, I. M., & Nazarchuk, H. H. (2017). Obgruntuvannia dotsilnosti zastosuvannia dekametoksynu pry antybiotyko- ta fahorezystentnosti psevdomonadnoi khirurhichnoi infektsii [Substantiation of expediency of the use of decamethoxin for antibiotic and phage resistance of pseudomonas surgical infection]. *Klinichna khirurgiia - Clinical Surgery*, 9 (905), 64-67. Vziato z http://nbuv.gov.ua/UJRN/KIKh_2017_9_20.
16. Trofimenko, Yu. Yu., Makats, Ye. F., Stukan, O. K., & Burkot, V. M. (2018). Chutlyvist bioplivkovykh ta planktonnykh form nefermentuiuchykh bakterii do dii antyseptykiv [Sensitivity of biofilm and planktonic forms of non-enzymatic bacteria to the action of antiseptics]. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu - Reports of Vinnytsia National Medical University*, 22 (2), 293-297. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(2)-12.
17. Chebotar, I. V. (2012). Antibiotikorezistentnost bioplyonochnykh bakterij [Antibiotic resistance of biofilm bacteria]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya - Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 14 (1), 51-58. Vzyato s <https://cmac-journal.ru/publication/2012/1/cmac-2012-t14-n1-p051/cmac-2012-t14-n1-p051.pdf>.
18. Burn incidence and treatment in the U.S.: 2007 Fact sheet. (2005). American Burn Association. (Accessed 14 Apr 2009). Retrieved from http://www.ameriburn.org/resources_factsheet.php.
19. Nahaichuk, V., & Nazarchuk, O. (2020). Correlation of Susceptibility to Antiseptics With Biofilm-forming Properties in *Acinetobacter baumannii* as a Pathogen of Surgical Infection. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*, 16 (1), 1-5.

References

1. Balko, O. I., & Avdieieva, L. M. (2013). Etapy bioplivkoutvorennia *Pseudomonas aeruginosa* [Stages of biofilm *Pseudomonas aeruginosa*]. *Ukrainian Food Journal*, 2 (1), 23-26.
2. Zaslavskaya, N. V., Artemenko, N. K., Chizhevskaya, M. M., & Tec, V. V. (2000). Osobennosti vyzhivaemosti bakterij v mikrobnyh soobshestvah [Features of bacterial survival in

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПОЗИЦИИ С ПРОЛОНГИРОВАННЫМ АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ ПО ОТНОШЕНИЮ К ПЛАНКТОННЫМ И ПЛЕНОЧНЫМ ФОРМАМ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Назарчук А. А., Нагайчук В. И., Римша Е. В., Палий В. Г., Вовк И. Н., Бобырь Н. А., Прокопчук З. Н., Стукан О. К.

Аннотация. Проблема лечения ожоговых ран тесно связана со специфичностью видового спектра микроорганизмов, ухуждающих ранозаживление у этой категории больных. Общепризнанной тревожной тенденцией последних лет являет-