Список літератури

1. Biofilms in chronic wounds /G.A.James, E.Swogger, R.Wolcott [et al.] //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.Bemer [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 [et al.] / /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. Quantifcation of biofIm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofIm 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: 13.10.2015 р.

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; valentinkovalchuk2015@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

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

УДК: 615.473:579.841

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

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

ДИНАМІКА УТВОРЕННЯ БІОПЛІВОК НА ПОВЕРХНІ ЕНДОТРАХЕАЛЬНИХ ІНТУБАЦІЙНИХ ТРУБОК *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ТА *ACINETOBACTER BAUMANNII*

Резюме. *В статті представленні результати дослідження швидкості утворення біоплівок на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок клінічними штамами Pseudomonas aeruginosa та Acinetobacter baumannii в умовах експерименту. Наведені результати динаміки зростання кількості клітин у біоплівці протягом 6 діб.*

Ключові слова: *ендотрахеальні інтубаційні трубки, біоплівка, неферментуючі грамнегативні бактерії.*

Вступ

У більшості природних біоценозів бактерії існують у вигляді організованих консорціумів є поверхневі біоплівки, і у складі яких їх функціонування істотно відрізняється від такого у планктонній формі. Утворення біоплівки надає мікробній популяції нових, на даний час мало вивчених властивостей [1, 2].

Дослідження закономірностей утворення плівок бактеріями знаходиться на етапі становлення: не розроблено універсальних методів дослідження, не існує бази системних знань щодо закономірностей розвитку цих процесів. Формування подібної бази можливе шляхом узагальнення результатів чисельних масштабних досліджень. Більшість існуючих у сьогоденні даних ґрунтується на результатах дослідження утворення бактеріальних біоплівок на поверхні лабораторних покрівельних скелець в штучному поживному середовищі [3]. Властивості поверхні цих об'єктів відрізняються від властивостей полімерних виробів медичного призначення, у тому числі ендотрахеальних інтубаційних трубок [ЕІТ].

Враховуючи роль бактеріального плівкоутворення на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок в інфікуванні тканини легень важкохворих і подальшому розвитку смертельно небезпечних вентилятор-асоційованих пневмоній, викликає значний інтерес вивчення динаміки процесу утворення біоплівок на поверхні серійних зразків цих виробів. Оскільки результатами вивчення видового складу біоплівок на поверхні використаних у клінічних умовах ЕІТ доведено провідну роль у їх колонізації неферментуючих грамнегативних бактерій у дослідженнях наша увага була зосереджена на вивченні закономірностей плівкоутворення саме цими мікроорганізмами.

Мета роботи - дослідити швидкість утворення біоплівок на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок грамнегативними неферментуючими бактеріями.

Матеріали та методи

Нами проведено дослідження швидкості утворення біоплівок на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок у штучних умовах клінічними штамами Pseudomonas aeruginosa та Acinetobacter baumannii, які були виділенні з поверхні цих виробів, що понад чотири доби знаходились у дихальних шляхах пацієнтів. З метою утворення біоплівок на поверхні ендотрахеальних трубок стерильні фрагменти останніх довжиною 1 см поміщали у пробірки з 5 мл м'ясо-пептонного бульйону та інокулювали 0,1 мл завису добової культури досліджуваного штаму мікроорганізмів у концентрації 109 КУО/мл. Культивування здійснювали при температурі 37 °С в часових інтервалах 6 год., 12 год., 24 год., 48 год., 96 год., 7 діб. По завершенні чергової експозиції інкубації зразки ендотрахеальних трубок відбирали із пробірок, трьохкратно промивали стерильним ізотонічним розчином хлориду натрію, переносили у скляні бюкси з 5 мл стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію і піддавали обробці ультразвуком протягом 8-ми хвилин при частоті 42 Hz в ультразвуковій ванні Codyson CD-7810A. З утвореного внаслідок ультразвукової дезінтеграції біоплівки завису бактерій готували послідовні десятикратні розведення і висівали на м'ясо-пептонний агар (МПА). Після добової інкубації у термостаті підраховували кількість колоній і перераховували на вміст бактеріальних клітин у одиниці об'єму завису у КУО/мл.

Результати. Обговорення

Біомасу бактеріальної плівки на поверхні фрагментів ЕІТ стандартного розміру оцінювали за кількістю колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів у зависі після ультразвукової дезінтеграції біоплівки при інкубації із поступовим збільшенням експозиції. Одержані результати показані на рис. 1.

Аналіз динаміки утворення біоплівки показує, що плівкоутворення на досліджених тест-об'єктах на першій добі культивування у псевдомонад відбувається уповільнено: у періоді часу від 6 до 12 год. інкубації збільшення кількості життєздатних клітин у плівці становило від lg 5,08 КУО/мл до lg 5,15 КУО/мл, що у відносних показниках складає близько 16%. Лише під кінець першої доби культивування відмічено зростання кількості мікроорганізмів більш ніж у 50 разів (lg 6,85 КУО/мл).

Протягом другої доби культивування кількість клітин на поверхні зразків ЕІТ зросла більш ніж на один порядок і досягла у культурах P. aeruginosa lg 8,08 КУО/мл. Кількість бактеріальних клітин у біоплівці досягла максимуму на кінець четвертої доби культивування, протягом п'ятої доби експерименту залишалась незмінною. Вочевидь, процес структуризації бактеріальних біоплівок на поверхні зразків ЕІТ у цей період часу був завершеним. На шостій добі спостережень було відмічено невелике падіння кількості життєздатних клітин у бактеріальній біоплівці.

Динаміку утворення біоплівок на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок мікроорганізмами виду A. baumannii відображено графіком на рисунку 2. В цілому результатами кількісного дослідження утворення біоплівок акінетобактеріями у динаміці встановлено, що закономірності формування біоплівки у цього виду бактерій повторюють такі для псевдомонад. Абсолютні показники кількості життєздатних бактерій у біоплівці для клінічних штамів акінетобактерій дещо нижчі від подібних для псевдомонад. Так, якщо кількість псевдомонад дезінтегрованих із плівок, що утворились на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок за 12 годин інкубації, сягала lg 5,15 КУО/мл, то у акінетобактерій цей показник був на один порядок нижчим і становив lg 4,15 КУО/мл.

Подібна тенденція зберігалась протягом другої доби культивування. У зависі, одержаному шляхом ультразвукової дезінтеграції біоплівки із зразка ЕІТ після 48-

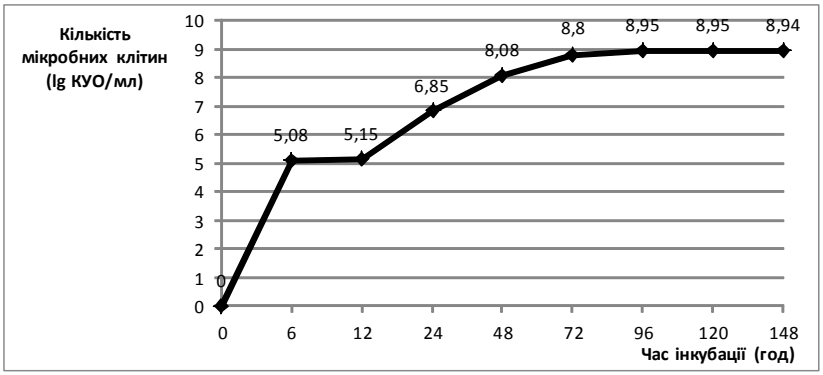

Рис.1. Динаміка утворення біоплівки P. aeruginosa на фрагменті EIT.

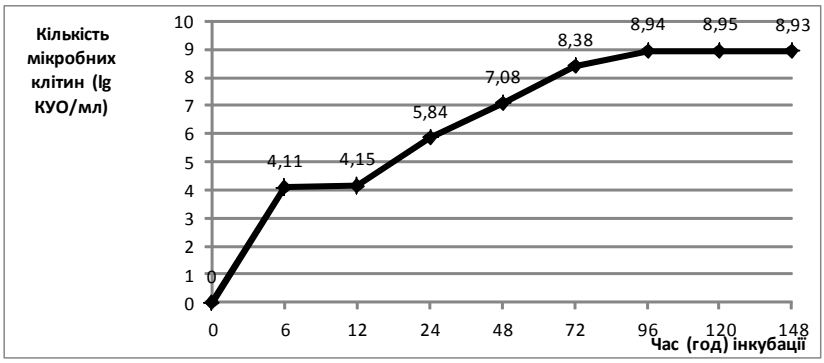

Рис. 2. Динаміка утворення біоплівки A. baumannii на фрагменті EIT.

ми годинного культивування, кількість акінетобактерій становила lg 7,08 КУО/мл. На той самий час кількість псевдомонад у зависі сягала lg 8,08 КУО/мл. Однак, по збігу четвертої доби культивування показники кількості мікроорганізмів в плівці у акінетобактерій і псевдомонад вирівнювались і сягали рівня lg 8,94 - 8,95 КУО/мл. Як і у псевдомонад, показник у акінетобактерій протягом п'ятої доби спостережень залишався сталим, а на шостій добі спостерігалось незначне його зниження.

Слід звернути увагу на те, що динаміка формування біоплівок неферментуючими грамнегативними бактеріями нагадує криві росту планктонних форм мікробних популяцій з повторенням фаз розвитку періодичної культури бактерій: лаг-фази, експоненціальної, стаціонарної, відмирання. Лише часові масштаби реалізації цих фаз є значно більшими, ніж у планктонній культурі. У псевдомонад найбільше зростання кількості клітин у біоплівці спостерігається протягом другої доби перебування зразка ендотрахеальної інтубаційної трубки у культурі бактерій. У акінетобактерій період найбільшого накопичення клітин у біоплівці припадає на трєтю добу. Максимальне накопичення життєздатних клітин у біоплівках неферментуючих грамнегативних бактерій в експериментальних умовах завершується після четвертої доби культивуваннння. Дослідження властивостей бактерій у складі біоплівок доцільно проводити після досягнення плівками "зрілості" на чотирьохдобовій моделі.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Динаміка формування біоплівок неферментуючими грамнегативними бактеріями на поверхні полімерних ендотрахеальних трубок нагадує криві росту планктонних форм мікробних популяцій з наявністю фаз розвитку подібних фазам розвитку періодичної культури бактерій: лаг-фази, експоненціальної, стаціонарної, відмирання. Однак, часові масштаби реалізації цих фаз є значно більшими, ніж у планктонній культурі.

2. Процес плівкоутворення P. aeruginosa за швидкістю випереджає аналогічний процес A. baumannii. У псевдомонад найбільше зростання кількості клітин у біоплівці спостерігається протягом другої доби перебування зразка ендотрахеальної інтубаційної трубки у культурі бактерій. У акінетобактерій період найбільшої інтенсивності накопичення клітин у біоплівці приходиться на третю добу. Завершувався процес бактеріального плівкоутворення неферментуючими грамнегативними мікроорганізмами у кінці четвертої доби перебування зразка EIT у культурі мікроорганізмів.

Чутливість мікроорганізмів, що вкарбовані у структуру біоплівки, до антибіотиків і антисептиків може істотно відрізнятись від такої планктонних форм. В перспективі необхідно встановити закономірності цих відмінностей. При цьому буде враховано, що структуризація біоплівки неферментуючих грамнегативних бактерій в експерименті завершується після чотирьохдобового перебування тест-об'єкту у культурі мікроорганізмів.

Список літератури

1. Афиногенова Л.Г. Микробные бипленки ран: состояние вопроса / Л.Г.Афиногенова, Е.Н.Даровская // Травматология и ортопедия России. - 2011. - №3. (61). - С.119-125.
2. Біоплівка як особлива форма організації бактерій та її роль в інфекційних процесах / О.І.Сідашенко, О.С.-Воронкова, О.А.Сірокваша [та ін.] / / Вісник проблем біол. та мед. - 2013. - Т.2, №3(103). - С. 36-40.
3. Балко О. Етапи біоплівкоутворення Pseudomonas aeruginosa / О.Балко, Л.Авдєєва, О.Балко // Ukrainian Food J. - 2013. - Vol.2, №1. - P.23-26.

Трофименко Ю.Ю., Буркот В.М., Макац Е.Ф.

ДИНАМИКА ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК НА ПОВЕРХНОТСИ ЭНДОТРАХЕАЛЬНЫХ ИНТУБАЦИОННЫХ ТРУБОК PSEUDOMONAS AERUGINOSA ТА ACINETOBACTER BAUMANNII

Резюме. *В статье представлении результаты исследования скорости образования биопленок на поверхности эндотрахеальных интубационных трубок клиническими штаммами Pseudomonas aeruginosa и Acinetobacter baumannii в условиях*

эксперимента. Представлены результаты динамики роста количества клеток в биопленке течение 6 суток.
Ключевые слова: *эндотрахеальные интубационные трубки, биопленка, неферментирующие грамотрицательные бактерии.*

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
Summary. *In the article the authors present the results of the research of the films formation velocity on the surface of endotracheal intubation tubes by clinical strains Pseudomonas aeruginosae and Acinetobacter baumannii in experimental conditions The results of the dynamics of the cells number increase in biofilm during 144 hours are given.*
Key words: *endotracheal intubation tubes, biofilm, non-enzymatic gram-negative bacteria.*

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

Стаття надійшла до редакції: 7.10.2015 р.

Трофіменко Юлія Юріївна - к.мед.н., асистент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; yuliya-trofimenko@ukr.net
Буркот Віта Михайлівна - асистент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; +38 096 96-31-680
Макац Євгена Федорівна - к.біол.н, доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; +38 0432 57-03-79

© Кучеренко О.М.
УДК: 616-005.1-053.6
Кучеренко О.М.
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології № 1 (вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

ОСОБЛИВОСТІ ГОРМОНАЛЬНОГО ФОНУ У ДІВЧАТ ЮНАЦЬКОГО ВІКУ З АНОМАЛЬНИМИ МАТКОВИМИ КРОВОТЕЧАМИ РІЗНИХ МОРФОТИПІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ФАЗ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛУ

Резюме. *Наведені результати дослідження 288 дівчат юнацького віку різних морфотипів. Першу групу досліджуваних становлять 58 дівчат з ювенільними матковими кровотечами, контрольну групу - 230 практично здорових дівчат. Вивчено гормональний фон в різні фази менструального циклу. Отримані дані допомагають оцінити стан репродуктивної системи дівчат юнацького віку і своєчасно діагностувати та прогнозувати в подальшому можливість виникнення патології статевої системи організму жінки.*
Ключові слова: *фолікулостимулюючий, лютеїнізуючий гормон, пролактин, тестостерон, естрадіол, прогестерон, дівчата юнацького віку з ювенільними матковими кровотечами, менструальний цикл, фолікулярна та лютеїнова фази.*

Вступ

Традиційний підхід до ведення пубертату в практичній охороні здоров'я не передбачає індивідуалізованої патогенетично обґрунтованої диспансеризації підлітків з різним морфотипом з урахуванням майбутнього материнства, необхідного для збереження репродуктивного здоров'я в сучасних умовах [1, 2, 4]. Ендокринні взаємовідносини в гіпоталамо-гіпофізарно-яєчниковій системі формуються саме в період статевого дозрівання і регулюються нейроендокринними процесами. Головну роль в цій регуляції відіграють гіпоталамус, гіпофіз, статеві залози, щитовидна залоза, кора надниркових залоз. [1, 2, 3, 4, 6]. Знання меж довірчих інтервалів рівня гормонів у різні вікові періоди у дівчат юнацького віку дозволяє запобігти діагностичним помилкам [1, 2, 4, 5, 6], а вивчення гормонального фону у дівчат з аномальними матковими кровотечами буде корисним для прогнозування та запобігання відхилень у статевому дозріванні майбутніх поколінь[4].

Мета дослідження - встановити закономірності динаміки змін рівня статевих гормонів при аномальних маткових кровотечах у дівчат юнацького віку в залежності від особливостей їх будови та розмірів тіла, які нададуть можливість більш точного прогнозування та діагностики порушень овaріо-менструального циклу у дівчат з різними антропо-сомато-типологічними ознаками.

Матеріали та методи

Нами було проведене комплексне обстеження дівчат юнацького віку з аномальними матковими кровотечами. З них першу групу становлять 58 дівчат без супутніх хронічних захворювань, контрольну групу - 230 практично здорових дівчат юнацького віку (матеріали взяті із бази даних НДЦ ВНМУ ім. М.І. Пирогова). На базі НДЦ Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова нами було проведено анкетування, антропосоматометрія, повне клініко-лабораторне та інструментальне дослідження, яке включало в себе ультразвукову діагностику паренхіматозних органів черевної порожнини, нирок, матки та яєчників, рентгенографію грудної клітки, загальні та біохімічні