



Ю. В. Пашенко, М. М. Мішина,  
К. Ю. Пашенко, Ю. М. Мішин

## СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ТЕРАПІЇ ГНІЙНОЇ АБДОМІНАЛЬНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ДІТЕЙ

Харківський національний  
медичний університет

© Колектив авторів

**Резюме.** Подано результати бактеріологічного дослідження штучних дренажних конструкцій, вилучених у дітей з гнійною абдомінальною інфекцією. Встановлено, що ізоляти *Streptococcus pyogenes* здатні формувати моно- і змішані з *S. aureus* та *E. coli* біоплівки. Показано, що аутоіндуктор «Фарнезол» посилює дію протимікробних препаратів до *S. pyogenes* як у формі планктону, так і в мікробному угрупованні, яке призводить до пригнічення утворення біоплівок. На підставі проведених досліджень розроблено практичні рекомендації щодо удосконалення лікування гнійно-запальних інфекцій та підвищення ефективності протимікробної терапії.

**Ключові слова:** абдомінальна інфекція, біоплівка, *S. pyogenes*, протимікробні препарати.

### Вступ

Хірургічна абдомінальна інфекція є причиною як післяопераційних ускладнень, так і смертності в усіх країнах світу, в тому числі й в Україні. Серед післяопераційних абдомінальних ускладнень найбільшу питому вагу мають післяопераційний перитоніт і сепсис. При септичному процесі показник смертності становить від 35 до 80% і безпосередньо залежить від збудника інфекційного процесу. За даними літератури [3, 5], при стафілококовому сепсисі показник летальності становить 35—40%, при стрептококовому — 20—30%, при синьогнійному — 40—50% тощо [2]. Однією з причин виникнення інфекційних захворювань та післяопераційних ускладнень є нераціональне використання протимікробних препаратів, що сприяє виникненню антибіотикорезистентності ізолятів. Дослідження останніх років довели, що причина недостатньої ефективності антибактеріальної терапії гнійно-запальних інфекцій пов'язана з відсутністю урахування ролі біоплівок і QS-систем мікроорганізмів у генезі септичного процесу [1, 4]. Основною перешкодою ефективному лікуванню післяопераційних інфекційних ускладнень є стійкість мікроорганізмів до лікарських препаратів, яка має такі складові, як множинна лікарська стійкість; резистентність, опосередкована транспортуванням ліків із клітин; стійкість, що обумовлена взаємодією мікробів усередині їх угруповання, і стійкість, що пов'язана з відсутністю реакцій бактерій на сигнал до загибелі з боку макроорганізму, тобто персистенція мікроорганізмів через створення біоплівок [9, 17].

У теперішній час фахівцями різних країн проведено безліч досліджень із приводу вивчення формування біоплівок мікроорганізмів та впливу на них різноманітних фізико-біологічних чинників, що здатні блокувати формування цих угруповань [8, 13, 14].

Доведено, що концепція біоплівок стосується інфекційних уражень більшості органів й практично усіх штучних імплантатів [7]. У Науково-дослідному інституті епідеміології та мікробіології імені Н. Ф. Гамалеї (м. Москва) було проведено дослідження щодо здатності до формування біоплівок мікроорганізмів на пластичному матеріалі і склі та доведено, що бактерії формують біоплівки на різноманітних матеріалах.

Показано, що біоплівки краще утворюються у безсолевому середовищі. Такі стресові умови, як відсутність поживних речовин або зниження температурного режиму, переважно індукують утворення некультивуючих форм мікроорганізмів, ніж біоплівок. Хоча, як утворення біоплівок, так і перехід у некультивуючий стан є для бактерій стратегічними процесами, необхідними для підтримки життєздатності й захисту від несприятливих чинників зовнішнього середовища. Фахівцями не знайдено суттєвих відмінностей у здатності бактерій, збудників гнійно-запальних післяопераційних процесів, зокрема *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*), до формування біоплівок, ці дослідження ще тривають [11].

Іншим напрямком цієї установи було розглядання питання щодо формування біоплівок клінічних штамів бактерій залежно від їх генетичних і фенотипічних характеристик. Доведено, що 80% ізолятів здатні формувати біоплівку і колонізувати поверхні органів і тканин, насамперед ран, та викликати хронічну госпітальну інфекцію. Біоплівка утворюється на медичних приладах, обладнанні, що формує вогнища інфекції, боротьба з якими ускладнена [16].

Процеси формування біоплівок бактерій на слизовій оболонці порожнин організму людини та у зовнішньому середовищі є одним з актуальних питань екології мікроорганізмів, що має велике медико-біологічне значення. Набуті у цьому напрямку знання є основою для розвитку нано-

біології та розробки нових біотехнологій. Застосування сучасної електронної мікроскопії відкрило можливості більш детального вивчення молекулярної організації структурних компонентів бактеріальної клітини і колоній, у тому числі й на достатньо великих плоских поверхнях близько розташованих клітин, що формують біоплівки певних структур [18].

Незважаючи на велику кількість робіт, присвячених дослідженню функціонування біоплівок, залишається практично не вивченим питання утворення біоплівок на металі, що є вкрай важливим. Тому провідними дослідниками Інституту мікробіології і вірусології НАН України було проведено багато експериментів із приводу вивчення формування біоплівок мікроорганізмів. Так, групою фахівців було простежено динаміку змін у мікробній асоціації за умов формування біоплівки на поверхні сталі. Було доведено, що при цьому процесі на поверхні сталі в мікробному угрупованні відбуваються сукцесійні зміни. Домінування певної фізіологічної групи створює оптимальні умови для функціонування наступного виду мікроорганізмів, який змінює попередній: першими поверхню колонізують гетеротрофні бактерії, що синтезують екзополімери, які сприяють формуванню структури біоплівки [10].

Головною метою усіх досліджень є боротьба з інфекційними чинниками захворювань, у тому числі шляхом руйнування біоплівок мікроорганізмів або здатності впливати на формування їх в організмі.

Виходячи з вищенаведеного доцільним було вивчити вплив протимікробних засобів на планктонні культури і біоплівки *S. pyogenes*, *Staphylococcus spp.*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *C. albicans*, а також дослідити комбіновану дію на них аутоіндукторів та антибактеріальних засобів.

*Мета роботи* — комплексне вивчення впливу протимікробних препаратів та фізико-біологічних чинників на формування біоплівок *S. pyogenes* з монокультури та *S. pyogenes* в асоціації з іншими мікроорганізмами — збудниками гнійної абдомінальної інфекції у дітей.

### Матеріал і методи

Матеріал для дослідження вилучали у 63 дітей з первинним і вторинним перитонітом різної етіології, у тому числі з післяопераційним. Субопераційно виконувався забір випоту для ідентифікації збудника та вивчення його чутливості до протимікробних препаратів. Крім того, досліджували прояви біофільм-інфекції на дренажних конструкціях після їх видалення за медичними показаннями.

Для досягнення поставленої мети були використані мікробіологічні методи, тобто бактеріологічні — виділення штамів бактерій, ідентифікація мікроорганізмів за загальноприйнятими мікробіологічними схемами виділення та ідентифікації

мікроорганізмів [15]. Визначення антибіотикорезистентності ізолятів проводили за допомогою диско-дифузійного методу [6]. Тестування усіх штамів мікроорганізмів на здатність утворювати біоплівки проводилися у плоскодонних полістиролових планшетах [11, 16].

Кількість інокульованих планктонних клітин підраховували на фотометрі «Multiskan EX 355» при довжині хвилі 540 нм й виражали в умовних одиницях оптичної щільності (рис. 1).



Рис. 1. Фотометр «Multiskan EX 355»

Статистична обробка проводилася за допомогою програми «Biostat» [12].

### Результати дослідження та їх обговорення

У результаті дослідження розроблено методи отримання змішаних біоплівок, що складаються з *S. pyogenes* та *S. aureus* або *E. coli* (рис. 2). Для проведення експериментальної частини роботи були обрані пари мікроорганізмів: *S. pyogenes* в асоціаціями з бактеріями, збудниками гнійних абдомінальних інфекцій — штамми, що ізолювані від дітей. Усі штами мали культуральні й тінкторіальні властивості, притаманні даним видам мікроорганізмів. Клінічні штами характеризувалися за здатністю утворювати моно- та змішані біоплівки в лабораторних умовах. Біомаса мікробних біоплівок, що була виявлена у полістиролових планшетах, вивчалася через 24 години культивування. Життєздатність мікроорганізмів у біоплівках визначали шляхом підрахунку колонієутворюючих одиниць в 1 мл біомаси угруповання.

Штами, що досліджувалися через 24 години інкубації, формували моно- та змішані біоплівки. Максимальна щільність біомаси моноплівки була зареєстрована через 24 години для усіх ізолятів. Оптична щільність змішаних мікробних угруповань збільшувалася протягом 48 годин інкубації й була достовірно вищою, ніж у біоплівках, що утворювалися кожним асоціантом окремо. При введенні у культуральне середовище протимікробних препаратів було зареєстровано дію протимікробних препаратів гатифлоксацину й цефепіму на планктонні клітини *Streptococcus pyogenes* та послаблену їх дію на *Streptococcus pyogenes* у формі біоплівки.

Дослідження клінічних штамів *S. pyogenes* показало, що введення у культуральне середовище аутоіндуктора «Фарнезолу» приводить до підви-



щення чутливості планктонних клітин *S. pyogenes* майже у 2 рази до ципрофлоксацину, у 3 рази — до гатифлоксацину, але практично не змінює чутливість до цефепіму (у 1,15 разу) (рис. 3). Вивчення впливу цих протимікробних засобів на здатність ізолятів *S. pyogenes* до формування біоплівок показало, що аутоіндуктор посилює дію протимікробних препаратів. Це призводить до пригнічення утворення біоплівки та підвищення чутливості до протимікробних препаратів клінічних штамів (у 16,8 рази — до ципрофлоксацину, у 11,4 разу — до гатифлоксацину, у 10,8 разу — до цефепіму).

При дослідженні впливу протимікробних препаратів й аутоіндуктора «Фарнезолу» на змішані біоплівки спостерігалась інша картина (рис. 4).

Так, у змішаних біоплівках *S. pyogenes* із *S. aureus* (рис. 5) ципрофлоксацин та гатифлоксацин практично не виявляли своєї антимікробної активності, про що свідчить висока оптична щільність сформованої біоплівки. При введенні у культуральне середовище аутоіндуктора «Фарнезолу» встановлено індукований вплив на фторхінолони. Так, щільність змішаної біоплівки значно зменшується. Таку ж тенденцію ми спостерігаємо й у випадку формування змішаної біоплівки *S. pyogenes* й *E. coli*, щільність якої під впливом ципрофлоксацину і фарнезолу знижується у 2,3 разу, а спільно з гатифлоксацином — у 3,1 разу, з цефепімом — у 14 разів.

При дослідженні поверхневої колонізації дренажних конструкцій доведено, що вже наприкінці другої доби післяопераційного періоду відбувається формування змішаних біоплівок, які досягають зрілості та перетворюються у мікробний консорціум на п'яту добу. Це потребує подальших

розробок щодо профілактики патологічної колонізації реінфікування та хронізації запального процесу у черевній порожнині.

Таким чином, дана робота з позицій концептуально нового підходу, використовуючи методологію доказової медицини, узагальнює наукову проблему — визначення впливу протимікробних

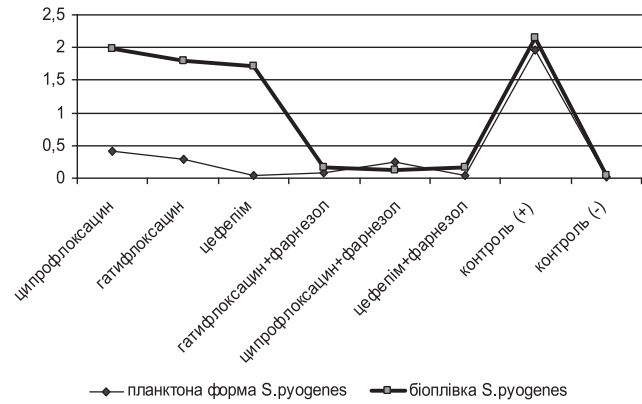


Рис. 3. Вплив протимікробних препаратів та фарнезолу на біоплівки і планктонні форми *Streptococcus pyogenes*

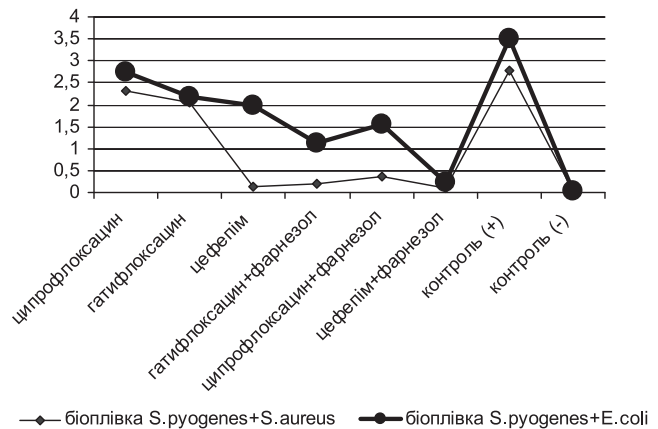


Рис. 4. Вплив антимікробних препаратів і фарнезолу на змішані біоплівки *S. pyogenes* + *E. coli* та *S. pyogenes* + *S. aureus*

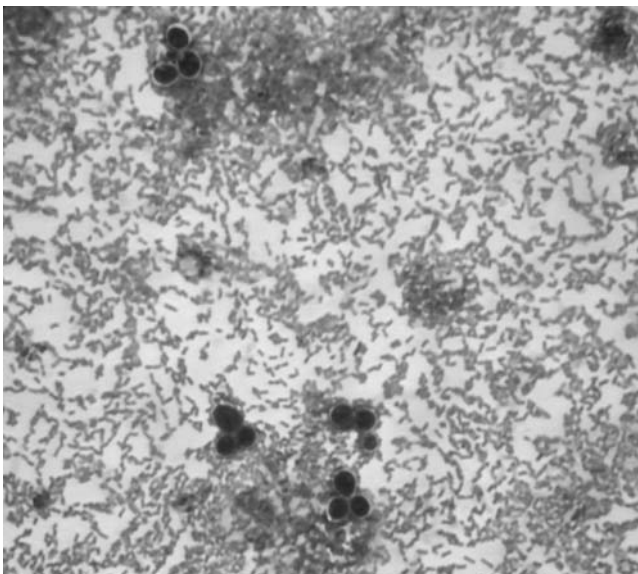


Рис. 2. Біоплівка *S. pyogenes* та *E. coli*

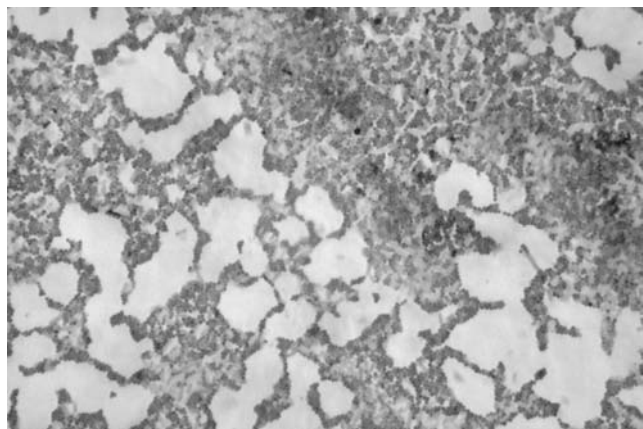


Рис. 5. Формування змішаної біоплівки *S. pyogenes* та *S. aureus* під впливом ципрофлоксацину

препаратів на *S.pyogenes* у формі біоплівки як етіологічного чинника гнійно-запальних ускладнень в абдомінальній патології.

У рамках концепції інтегральності впливу біологічних механізмів на формування біоплівок мікроорганізмів доведено значущість аутоіндуктора «Фарнезолу» на здатність *Streptococcus pyogenes* до плівкоутворення.

На основі проведених досліджень розроблено практичні рекомендації щодо удосконалення лікування гнійно-запальних інфекцій та підвищення ефективності протимікробної терапії.

## Висновки

1. Встановлено, що ізоляти *Streptococcus pyogenes* здатні формувати моно- й змішані з *S. aureus* та *E. coli* біоплівки.

2. Аутоіндуктор «Фарнезол» потенціює дію гатифлоксацину й цефепіму, що пригнічує утворення біомаси формуючих біоплівок *in vitro*.

3. На поверхні дренажних конструкцій черевної порожнини формуються біоплівки, що потребує подальших розробок щодо профілактики патологічної колонізації реінфікування та хронізації запального процесу в черевній порожнині.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Вознесенский Н.А. Биопленки — терапевтическая мишень при хронических инфекциях / Н.А. Вознесенский // Пульмонология и аллергология. — 2008. — №3. — С. 56—64.
2. Горшевникова Э.В. Особенности возбудителей гнойно-септической хирургической инфекции и их антибиотикорезистентность / Э.В. Горшевникова // Клиническая антибиотикотерапия. — 1999. — №1. — С. 41—44.
3. Григорьев Е.Г. Хирургия тяжелых гнойных процессов / Е.Г. Григорьев. — Новосибирск: Наука, 2000. — 314 с.
4. Грузина В.Д. Коммуникативные сигналы бактерий / В.Д. Грузина // Антибиотики и химиотерапия. — 2003. — №48 (10). — С. 32—39.
5. Козлов Р.С. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, профилактика, контроль / Р.С. Козлов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2000. — Т. 1, №2. — С. 16—30.
6. Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях / Прил. I к Приказу Министерства здравоохранения СССР №535 от 22 апреля 1985 г. — 123 с.
7. Михайлова Е.С. Способность к формированию биопленок у микроорганизмов, выделенных их верхних отделов ЖКТ больных хроническим холециститом и ЖКБ / Е.С. Михайлова, Ю.В. Червинец // Успехи современного естествознания. — 2009. — №7. — С. 5—9.
8. Мошкевич И.Р. Микробные биопленки при смешанных инфекциях: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук: спец. 03.00.07 «Микробиология» / И.Р. Мошкевич. — СПб, 2007. — 20 с.
9. Особенности выживаемости бактерий в микробных сообществах / Н.В. Заславская, Н.К. Артеменко, М.М. Чижевская, В.В. Тец // Клин. микробиол., антимикроб., химиотер. — 2000. — №2. — С. 2—19.
10. Пуріш Л.М. Динаміка сукцесійних змін у сульфідогенній мікробній асоціації за умов формування біоплівки на поверхні сталі / Л.М. Пуріш, Л.Г. Асауленко // Микробиологічний журнал. — 2007. — Т.69, №6. — С. 19—25.
11. Рубинова Г.Е. Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии / Г.Е. Рубинова. — М.: Медицина, 1994 — 234 с.
12. Способность к формированию биопленок в искусственных системах у различных штаммов *Salmonella typhimurium* / Ю.М. Романова, Н.В. Алексеева, А.Л. Гинцбург [и др.] // Журнал микробиологии. — 2006. — №4. — С. 38—42.
13. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич — Киев: Морин, 2000. — 320 с.
14. Тец В.В. Бактериальные сообщества / В кн.: Клеточные сообщества / под ред. В.В. Теца. — СПб, 1998. — С. 15—73.
15. Тец Г.В. Биопленки возбудителей уроинфекций и использование фторхинолонов / Г.В. Тец, К.Л. Артеменко, Н.В. Заславская. — [Электронный ресурс]: библиотека і доступність інформації у сучасному світі: електронні ресурси науки, культури та освіти. — Режим доступу до журн.: <http://www.solvay-pharma.ru>.
16. Шагинян И.А. Формирование биопленок клиническими штаммами бактерий комплекса *Burkholderia* серасія в зависимости от их фенотипических и генотипических характеристик / И.А. Шагинян, Г.А. Данилина, М.Ю. Чернуха // Журнал микробиологии. — 2007. — №1. — С. 3—9.
17. 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.
18. O'Toole G.A. Biofilm formation as microbial development / G. A. O'Toole, H. B. Kaplan, R. Kolter // Ann. Rev. Microbiol. — 2000. — Vol. 54. — P. 49—79.



СОВРЕМЕННЫЙ  
ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ  
ТЕРАПИИ ГНОЙНОЙ  
АБДОМИНАЛЬНОЙ  
ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

*Ю. В. Пащенко, М. М. Мишина,  
К. Ю. Пащенко, Ю. М. Мишин*

**Резюме.** Представлены результаты бактериологического исследования искусственных дренажных конструкций, изъятых у детей с гнойной абдоминальной инфекцией. Установлено, что изоляты *Streptococcus pyogenes* способны формировать моно- и смешанные с *S. aureus* и *E. coli* биопленки. Показано, что аутоиндуктор «Фарнезол» усиливает действие противомикробных препаратов в *S. pyogenes* как в форме планктона, так и в микробной ассоциации, что приводит к угнетению образования биопленок. На основе проведенных исследований разработаны практические рекомендации относительно усовершенствования лечения гнойно-воспалительных инфекций и повышения эффективности противомикробной терапии.

**Ключевые слова:** абдоминальная инфекция, биопленка, *S. pyogenes*, противомикробные препараты.

MODERN APPROACH TO THE  
PROBLEM OF THERAPY OF  
PURULENT ABDOMINAL  
INFECTION IN CHILDREN

*Yu. V. Pashchenko,  
M. M. Mishina,  
K. Yu. Pashchenko, Yu. M. Mishin*

**Summary.** The results of bacteriological research of the artificial drainage constructions taken from children with purulent abdominal infection are presented. It is established that *Streptococcus pyogenes* isolates are capable to form mono- and mixed biofilms with *S. aureus* and *E. coli*. It is shown that autoinductor pharnesolum strengthens the action of antibacterial preparations on *S. pyogenes*, both in the form of a plankton and in microbic grouping that leads to oppression of biofilms formation. Based on the spent researches, practical recommendations about improvement of treatment of pyoinflammatory infections and efficiency increasing of antibacterial therapy are developed.

**Key words:** abdominal infection, biofilms, *S. pyogenes*, antibacterial drugs.