

© Маслій Ю.В., Мазур П.С., Судома І.О., Микитенко Д.О.

УДК: 618.177-089.888.11-06:618.32-07:576.371

Маслій Ю.В.¹, Мазур П.С.¹, Судома І.О.^{1,2}, Микитенко Д.О.¹

¹Клініка репродуктивної медицини "НАДІЯ" (вул. Максима Кривоноса, 19-а, м.Київ, 03037, Україна); ²Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика (вул. Г.Сталінграду, 16, м.Київ, 04112, Україна)

МОРФОКІНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕМБРІОНІВ У ПАЦІЄНТІВ З БАГАТОРАЗОВИМИ НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ЕКЗ

Резюме. У жінок з гарним яєчниковим резервом, великою кількістю ембріонів і повторними невдачами імплантації покращення селекції (відбору) ембріонів для перенесення у порожнину матки може бути вкрай важливим. У такій групі пацієнтів ретроспективно досліджували ембріоскопічні критерії еуплоїдних зародків, що імплантувалися та таких, що не імплантувалися. Суттєвої різниці у морфокінетичних характеристиках встановлено не було. Найбільш вагомим для оцінки імплантаційного потенціалу зародка встановлені такі морфологічні ознаки як наявність і ступінь важкості мультинуклеації. В цілому, ембріоскопія є інформативним методом спостереження за раннім розвитком ембріона.

Ключові слова: екстракорпоральне запліднення, багаторазові невдалі імплантації, ембріоскопія, time-lapse технологія, порівняльна гібридизація геномів.

Вступ

Багаторазові невдалі імплантації у програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) - одна з болючих проблем репродуктології. Причини невдач імплантації можуть бути найрізноманітніші, діагностика їх ускладнена, тому використовують багато емпіричних підходів для їх подолання. Одним із таких підходів є покращення селекції (відбору) ембріонів для перенесення у порожнину матки. До існуючих наразі методик селекції, котрі використовують у практичній діяльності, належать наступні: морфологічне оцінювання, морфокінетичне спостереження (ембріоскопія) та передімплантаційні генетичні дослідження.

Основним методом оцінки ембріонів є морфологічний метод [3, 4], або "живий" огляд зародків під мікроскопом за певною системою. Ембріонів до компактизації (приблизно третя доба розвитку) оцінюють, як правило, за наступними критеріями: кількість бластомерів, рівність бластомерів, наявність фрагментації та мультинуклеації бластомерів (наявність декількох/багатьох ядер у бластомерах) [6]. Після компактизації ембріону (4 доба) критерієм його оцінки є наявність морули. А після утворення бластоцисти (5-7 доба) оцінюють її якість за системою Гарднера [5].

Однак, морфологічний метод оцінки якості ембріонів не позбавлений недоліків: він суб'єктивний (залежить від досвіду ембріолога); до того ж, ембріон вкрай мінливий у своєму розвитку - непривабливий на другу добу ембріон (таке собі "бридке каченя") може перетворитися на здорову і дуже симпатичну дитинку.

Наприкінці першого десятиріччя XXI-го сторіччя з'явився новий метод оцінки якості (чи радше життєздатності) ембріонів - ембріоскопія. Ембріоскоп - настільний тригазовий інкубатор, який підтримує оптимальні умови для культивування ембріонів до стадії бластоцисти [18], дозволяє спостерігати за особливостями їх розвитку шляхом покадрової зйомки кожні 15 хвилин у декількох фокальних площинах (time-lapse) та дає можливість вести облік усіх суміжних подій, які стосуються культивування (флуктуації температури, концентрації газів).

Інформацію, котру збирають, передають на сервер, а звідти - на робочу станцію, де ембріолог проводить морфокінетичний аналіз та спостерігає за умовами культивування ембріонів за допомогою спеціального програмного забезпечення.

Ембріоскопія - з одного боку, це потужний метод деселекції ембріонів [15], який полягає у відсіюванні нежиттєздатних ембріонів за ключовими показниками їх розвитку, з іншого - це метод селекції найбільш життєздатних ембріонів за допомогою вбудованого у програмне забезпечення інструменту оцінювання, заснованого на базі ієрархічного дерева, та додаткових показників. До таких показників відносять: оцінку якості зигот, характер і час дроблення (регулярне чи нерегулярне), наявність і клас фрагментації, наявність і клас мультинуклеації, рівність бластомерів тощо.

Ембріони завантажують до спеціальної чашки Петрі з дванадцятьма лунками - EmbryoSlide®, де проводять індивідуальне культивування ембріонів, котре також може мати певні переваги порівняно із, так званим, груповим культивуванням. Спираючись на дані програми, ембріолог має змогу виставити ембріону 2 оцінки (морфологічну та морфокінетичну) та обрати найліпший ембріон за сумою цих оцінок [7].

До переваг ембріоскопії можна віднести те, що це неінвазійний об'єктивний аналіз життєздатності ембріонів [9], який дозволяє проведення селективного (вибіркового) перенесення одного ембріона зі збереженням частоти вагітності, яка була би досягнута при перенесенні 2-х ембріонів [13]; до того ж існує можливість проведення ретроспективного аналізу циклу в разі невдачі і вибору правильної стратегії на наступний цикл.

Однак, незважаючи на усі переваги методу, він аналогічно морфологічному оцінюванню, не дає відповіді на одне з найголовніших питань ембріології: чи є відібраний ембріон еуплоїдним, тобто чи містить він "правильний" набір хромосом.

Для відбору еуплоїдних ембріонів використовують доімплантаційну генетичну діагностику. Останнім часом

для генетичного дослідження зародків почали використовувати метод порівняльної гібридизації геномів (CGH) або секвенування наступного покоління (NGS). На відміну від менш досконалого методу fluorescentin-situhybridization (FISH), що застосовували раніше, ці сучасні технології дозволяють діагностувати анеуплоїдії та мікроструктурні хромосомні перебудови одночасно за всіма хромосомам [1].

Метою даного дослідження було виявлення ембріоскопічних морфокінетичних та морфологічних ознак, які б дозволили оцінювати імплантаційний потенціал ембріонів у жінок з множинними невдачами імплантації.

Матеріали та методи

Для проведення дослідження було відібрано ембріони 23 неплідних пар з багаторазовими невдалими імплантаціями (щонайменше 4) у програмах ДРТ. Для виключення впливу генетичного чинника на здатність зародка імплантуватися, до роботи було залучено лише тих пацієнтів, котрим проводили передімплантаційну генетичну діагностику ембріонів.

Середній вік пацієнток склав 38 років. Всі жінки мали гарний яєчниковий резерв, нормальну відповідь на контрольовану стимуляцію яєчників (щонайменше 7 ооцитів, в середньому - $12,5 \pm 5,0$).

У чоловіків з групи дослідження не діагностували важких форм чоловічої неплідності (менше 1 млн. сперматозоїдів в еякуляті). В усіх випадках запліднення яйцеклітин проводили методом Intra Cytoplasmic Sperm Injection (ICSI) або Intracytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection (IMSI).

Ембріони культивувалися від зиготи (перша доба після запліднення) до п'ятої (шостої або сьомої) доби при $5,3\% \text{CO}_2$ та $5,0\% \text{O}_2$ та температурі 37°C у незмінному (single step) середовищі (LifeGlobal® global® total®). Трофектодермальну біопсію проводили на 5-7 добу розвитку зародків на стадії бластоцисти [2]. Порівняльну гібридизацію геномів проводили на клітинах трофектодерми за допомогою 24sure® array (BlueGnome, UK). Переносили виключно по одному еуплоїдному ембріону п'ятої чи шостої доби розвитку.

Ретроспективно було проаналізовано морфокінетику та морфологію ембріонів, відібраних для проведення доімплантаційної діагностики методом CGH.

Морфокінетичну та морфологічну оцінки виставляли за даними ембріоскопії. Для морфокінетичної оцінки використовували універсальний алгоритм, запропонований Meseguer M. та колегами [20], в якому враховували час першого дроблення (t_2), час появи третього (t_3), четвертого (t_4) та п'ятого бластомерів (t_5) (табл. 1). Елементи алгоритму представлені на рис. 1.

Всі ембріони розподілили на 2 групи: такі, що імплантувалися успішно, та такі, котрі не імплантувалися. Ознакою вдалої імплантації вважалась наявність маткової вагітності, що розвивається (зародок із серцебиттям, виявлений при ультразвуковому дослідженні у

Таблиця 1. Середній час (в годинах) ранніх етапів дроблення ембріонів з обох груп.

Група ембріонів/час дроблення	t2	t3	t4	t5
Імплантувалися	$26,2 \pm 3,3$	$37,9 \pm 3,35$	$39,8 \pm 4,86$	$53,9 \pm 5,1$
Не імплантувалися	$26,0 \pm 2,9$	$37,9 \pm 3,6$	$39,0 \pm 4,54$	$53,8 \pm 7,42$

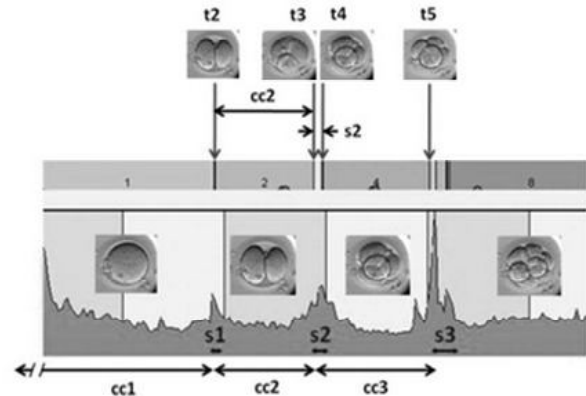


Рис. 1. Графічне представлення елементів алгоритму.

строці вагітності 6 тижнів).

Дослідження проводили з 2012 рік по 2015 рік включно.

Результати. Обговорення

Усього було перенесено 49 еуплоїдних ембріонів, частота імплантації (та частота настання вагітності) складала 41%. Цікавим є те, що 8 із 20 (40%) вагітностей було досягнуто на шестидобових ембріонах. Із 20 ембріонів, які імплантувалися, жоден не зупинився у розвитку, то ж народилося 20 дітей: 6 дівчаток і 14 хлопчиків.

Різниця за характером дроблення ембріонів на ранніх етапах розвитку між ембріонами, які імплантувалися та ембріонами, які не імплантувалися виявлено не було (рис. 2), відповідно, не було знайдено і різниці у розподіленні морфокінетичних оцінок у межах двох груп.

Морфологія ембріонів на ранніх етапах суттєво відрізнялася. Так, у групі зародків, які імплантувалися, було виявлено лише легку мультинуклеацію в 30% випадків (6 із 20), водночас серед ембріонів, які не імплантувалися, мультинуклеація різних ступенів, включаючи важку, була присутня в 66% (19 із 29) ембріонів.

Важливо зауважити, що якість бластоцист в обох групах була порівнюваною (оскільки трофектодермальна біопсія проводиться тільки на ембріонах гарної якості).

В літературі зараз широко дискутуються питання корисності ембріоскопічного спостереження в часі (time-lapsetechnologies) у клінічній практиці ДРТ. Безсумнівно, ембріоскопія, як така, розкрила багато нюансів розвитку зародка на доімплантаційних етапах, про які нам було невідомо [13]. Але чи можна ці знання використати для поліпшення результативності програм ДРТ, наразі досить невідомо. Є дослідження, в яких стверджується, що використання ембріоскопії покращує результа-

тивність програм штучного запліднення [9, 10, 11, 12, 15, 20], а є такі, що це спростовують [8, 19]. В одному з останніх оглядів, присвячених ролі ембріоскопії у виборі ембріонів для переносу [17], було проаналізовано бази даних PubMed, Scopus, Cochrane Central, ClinicalTrials.gov, Current Controlled Trials з метою пошуку рандомізованих контрольованих досліджень, які б вивчали вплив time-lapse селекції та/або культивування в закритій системі ембріоскопа на результативність ДРТ. Було виявлено 4 відповідних роботи. З них в одному дослідженні було показано позитивний вплив ембріоскопії на частоту вагітності, ще в одному - слабкий (несуттєвий) негативний ефект. Автори огляду роблять висновок про те, що рутинне використання ембріоскопії ще не на часі, а існує нагальна потреба в додаткових добре організованих дослідженнях.

За нашими даними, морфокінетичні особливості розвитку ранніх ебріонів, які імплантувалися в подальшому і тих, що не імплантувалися, були однаковими. Тобто, використання цих критеріїв відбору зародка для переносу не принесло би поліпшення частоти настання вагітності, частоти імплантації. Однак деякі особливості морфології ембріонів, які були виявлені при ембріоскопічному спостереженні, а саме, мультинуклеація, особливо середні і важкі форми її, зустрічалися суттєво частіше у зародків, які не імплантувалися. На наш погляд, цей критерій можна було б використовувати, як додаткову ознаку при виборі ембріонів для перенесення в порожнину матки.

Наші результати збігаються з даними цікавої роботи Goodman зі співавторами [8], метою якої було визначити, чи покращує частоту настання вагітності використання ембріоскопічного спостереження (морфокінетики). Це було рандомізоване контрольоване дослідження, до якого було залучено 235 жінок. У всіх пацієнток зародки культивувалися в ембріоскопі. Вибір ембріона для переносу у 119 пацієнток базувався на єдиному "живому" огляді і оцінюванні (морфологічне оцінювання), а у 116 жінок на додаток до "живого" огляду, брали до уваги також і морфокінетичні ознаки. Автори отримали майже однакові показники ЧВ та ЧІ в обох групах. Цікавим і вартим уваги, на наш погляд, є дані дослідників щодо значно кращої ембріоскопічної діагностики мультинуклеації.

Так, при однократному "живому" огляді мультинуклеацію було діагностовано в 7%, а при ретроспективному перегляді ембріоскопічних зображень тих самих зародків - в 35,3%. Окрім того, мультинуклеація, за даними авторів, незалежно асоціюється зі зниженням імплантації.

Слід зазначити, що спостереження за зародками в ембріоскопі має ряд очевидних переваг. Ембріоскопія може надати ембріологу суттєво більше інформації, ніж рутинна щоденна перевірка, що значно заощаджує час і суттєво полегшує роботу лабораторії. Накопичення знань про особливості розвитку ембріона на доімплан-

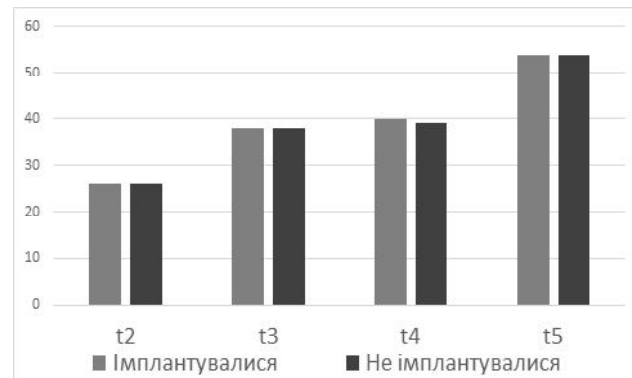


Рис. 2. Залежність часу раннього дроблення та імплантації зародків.

таційних етапах потребують осмислення, аналізу й узагальнення. Так, в ряді робіт було доведено, що використання морфокінетичних показників може бути предиктором розвитку бластоцисти гарної якості [14, 16, 21], що теоретично могло б покращити результативність переносів 3-добових зародків. Окрім того, роль такої аномалії ембріонів, як мультинуклеація може бути переоцінена. Покращення її діагностики за допомогою ембріоскопічного спостереження дозволить уникнути перенесення ембріонів зі заздалегідь відомим зниженим імплантаційним потенціалом. Можливо, будуть виявлені інші морфокінетичні та морфологічні ознаки, що допоможуть не лише у відборі кращих ембріонів для перенесення в матку, але і у виборі подальшої тактики ведення пацієнтки.

Поки що ці технології є ще досить коштовними і, з точки зору співвідношення затрати/клінічні переваги, не всі пацієнти їх потребують. Можливо, для різних груп пацієнтів будуть розроблені різні алгоритми оцінювання як морфокінетичних, так і морфологічних ознак ембріонів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Морфокінетичні характеристики ранніх ембріонів, запропоновані в універсальному алгоритмі (Meseguer M.), не дозволяють обрати між ембріонами, які потенційно можуть імплантуватися, і тими, що не імплантуються.

2. Морфологічні ознаки ранніх ембріонів, а саме відсоток і важкість мультинуклеації є важливими показниками імплантаційного потенціалу зародків.

3. Ембріоскопія є інформативним методом дослідження зародків у пацієнтів з множинними невдачами імплантації, що може дати додаткову корисну інформацію для покращення відбору ембріонів для перенесення в порожнину матки.

Перспективи подальших розробок полягають у можливості більш ефективного лікування пацієнток із багаторазовими невдалими спробами за рахунок удосконалення алгоритмів селекції ембріонів під час ембріоскопії.

Список літератури

1. Микитенко Д.А. Сравнительная генетическая гибридизация: новый стандарт диагностики в репродуктивной медицине /Д.А.Микитенко, В.Д.Зукин //Здоровье женщины.- 2010.- №9 (55).- С.183-187.
2. A prospective randomized comparison of sequential versus monoculture systems for in-vitro human blastocyst development /N.S.Macklon, M.H.E.C. Pieters, M.A.Hassan [et al.] //Human Reproduction.- 2002.- Vol.17, №10.- P.2700-2705.
3. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting // Human Reproduction.- 2011.- Vol.26.- №6.- P.1270-1283.
4. Baczkovsky T. Methods of embryo scoring in vitro fertilization /T.Baczkovsky, R.Curzawa, W.Glabovsky //Reproductive biology.- 2004.- Vol.4, №1.- P.5-22.
5. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer /D.K.Gardner, M.Lane, J.Stevens [et al.] //Fertility and Sterility.- 2000.- Vol.73.- P.1155-1158.
6. Chromosomal complement and clinical relevance of multinucleated embryos in PGD and PGS cycles /A.Yilmaz, L.Zhang, X.Y.Zhang [et al.] // Reproductive Bio Medicine Online.- 2014.- Vol.28.- P.380-387.
7. Cleavage kinetics analysis of human embryos predicts development to blastocyst and implantation /M.Dal Canto, G.Coticchio, M.M.Renzini [et al.] //Reproductive Bio Medicine Online.- 2012.- Vol.25.- P.474-480.
8. Does the addition of time-lapse morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial / L.R.Goodman, J.Goldberg, T.Falcone [et al.] //Fertil. Steril.- 2016.- Vol.105 (2).- P.275-85.
9. Embryo incubation and selection in a time-lapse monitoring system improves pregnancy outcome compared with a standard incubator: a retrospective cohort study /M.Meseguer, I.Rubio, M.Cruz [et al.] //Fertil. Steril.- 2012.- Vol.98.- P.1481-1489.
10. Improved implantation rates of day 3 embryo transfers with the use of an automated time-lapse-enabled test to aid in embryo selection /G.D.Adamson, M.E.Abusief, L.Palao [et al.] //Fertil. Steril.- 2016.- Vol.105(2).- P.369-75.
11. Increasing the probability of selecting chromosomally normal embryos by time-lapse morphokinetics analysis / N.Basile, C.Nogales, F.Bronet [et al.] // Fertil. Steril.- 2014.- Vol.101.- P.699-704.
12. Is there a relationship between time-lapse parameters and Embryo sex? / F.Bronet, M.C.Nogales, E.Martinez [et al.] //Fertil. Steril.- 2015.- Vol.103.- P.396-401.
13. Kaser D.J. Clinical outcomes following selection of human preimplantation embryos with time-lapse monitoring: a systematic review /D.J.Kaser, C.Racowsky //Hum. Reprod. Update.- 2014.- Vol.20 (5).- P.617-631.
14. Kirkegaard K. Time-lapse monitoring as a tool for clinical embryo assessment /K.Kirkegaard, I.E.Agerholm, H.Jakobsen //Human Reproduction.- 2012.- Vol.27.- №5.- P.1277-1285.
15. Limited implantation success of direct-cleaved human zygotes: a time-lapse study /I.Rubio, R.Kuhlmann, I.Agerholm [et al.] //Fertil. Steril.- 2012.- Vol.98.- P.1458-1463.
16. Morphokinetic analysis and embryonic prediction for blastocyst formation through an integrated time-lapse system /Y.Motato, M.J. de los Santos, M.J.Escriba [et al.] //Fertil. Steril.- 2016.- Vol.105 (2).- P.376-384.
17. Racowsky C. A critical appraisal of time-lapse imaging for embryo selection: where are we and where do we need to go? /C.Racowsky, P.Kovacs, W.P. Martins //J. Assist. Reprod. Genet.- 2015.- Vol. 32 (7).- P.1025-1030.
18. Swain J.E. Decisions for the IVF laboratory: comparative analysis of embryo culture incubators /J.E.Swain //Reproductive Bio Medicine Online.- 2014.- Vol.28.- P.535-547.
19. The use of morphokinetic parameters to select all embryos with full capacity to implant /S.Chamayou, P.Patrizio, G.Storaci [et al.] //J. Assist. Reprod. Genet.- 2013.- Vol.30.- P.703-710.
20. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation /M.Meseguer, J.Herrero, A.Tejera [et al.] //Human Reproduction.- 2011.- Vol.26, №10.- P.2658-2671.
21. Time-lapse parameters as predictors of blastocyst development and pregnancy outcome in embryos from good prognosis patients: a prospective cohort study /K.Kirkegaard, U.S.Kesmodel, J.J.Hindkjaer [et al.] //Hum.Reprod.- 2013a.- P.1-9.

Маслий Ю.В., Мазур П.С., Судома И.О., Микитенко Д.А.

МОРФОКЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОНОВ У ПАЦИЕНТОВ С МНОГОРАЗОВЫМИ НЕУДАЧНЫМИ ПОПЫТКАМИ ЭКО

Резюме. У женщин с хорошим яичниковым резервом, большим количеством эмбрионов и повторными неудачными имплантациями улучшение селекции (отбора) эмбрионов для переноса в полость матки может быть очень важным. В этой группе пациентов ретроспективно исследовали эмбриоскопические критерии зуплоидных эмбрионов, которые имплантировались и тех, которые не имплантировались. Существенной разницы в морфокинетических характеристиках найдено не было. Наиболее весомой для оценки имплантационного потенциала эмбриона оказался такой морфологический критерий, как наличие и степень тяжести мультинуклеации. В целом эмбриоскопия является информативным методом наблюдения за ранним развитием эмбриона.

Ключевые слова: экстаракорпоральное оплодотворение, многоразовые неудачные имплантации, эмбриоскопия, time-lapse технология, сравнительная гибридизация геномов.

Masliy Yu., Mazur P., Sudoma I., Mykytenko D.

MORPHOKINETIC FEATURES OF EMBRYOS IN PATIENTS WITH MULTIPLE FAILED IVF ATTEMPTS

Summary. Improving of embryo selection for women with a good ovarian reserve, a large number of embryos and repeated implantation failures can be extremely important. In this group of patients morphokinetic characteristics of euploid embryos that implanted and those that not implanted were studied retrospectively. It was found no significant difference in morphokinetics. Most significant thing for the evaluation of embryo implantation potential was found such morphological feature as the presence and severity multinucleation. Overall, time-lapse observation is an informative method for assessing of the early embryo development.

Key words: in vitro fertilization, multiple implantation failures, embryoscopy, time-lapse technology, comparative genomic hybridization.

Рецензент - д.мед.н. Суслікова Л.В.

Стаття надійшла до редакції 30.04.2016р.

Маслій Юлія Володимирівна - к. мед. н., лікар акушер-гінеколог клініки репродуктивної медицини "Надія", +38(044)5377597; Y.masliy@ivf.com.ua

Мазур Павло Сергійович - лікар-ембріолог клініки репродуктивної медицини "Надія"; +38(044)5377597; P.Mazur@ivf.com.ua

Судомо Ірина Олександрівна - д. мед. н., професор кафедри акушерства, гінекології та репродуктології №2 НМАПО ім. П.Л.Шупика, науковий директор клініки репродуктивної медицини "Надія"; +38(044)5377597; I.Sudoma@ivf.com.ua

Микитенко Дмитро Олександрович - к. мед. н., завідувач лабораторії молекулярної діагностики клініки репродуктивної медицини "Надія"; +38(044)5922178; d.mykytenko@genetics.kiev.ua

© Назарчук О.А., Палій Д.В., Нагайчук В.І., Осадчук Н.І., Кьоніг Е., Бобир В.В.

УДК: 577.182:579

Назарчук О.А., Палій Д.В., Нагайчук В.І., Осадчук Н.І., Кьоніг Е., Бобир В.В.

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

АНАЛІТИЧНЕ ПРОГНОЗУВАННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО АМІНОГЛІКОЗИДІВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Резюме. В роботі наведені результати дослідження чутливості до аміноглікозидів клінічних штамів *Pseudomonas aeruginosa*, виділених від хворих з глибокими опіками. З використанням методів математичного аналітичного прогнозування, вперше встановлено прогностичні показники зміни чутливості *P. aeruginosa* до гентаміцину, тобраміцину, амікацину. У клінічних ізолятів *P. aeruginosa* встановлено зниження чутливості до гентаміцину, амікацину; помірне відновлення чутливості до тобраміцину. Прогнозовано динаміку зниження чутливості до гентаміцину, амікацину *P. aeruginosa* в найближчому майбутньому.

Ключові слова: *Pseudomonas aeruginosa*, чутливість, прогнозування, антибіотики, аміноглікозиди.

Вступ

Актуальність проблеми розвитку інфекційних ускладнень у хворих з глибокими опіками обґрунтовують ефективністю, тривалістю лікування та рівнем летальності. Колонізація опікових ран умовнопатогенними мікроорганізмами підвищує ризик генералізації бактерій в результаті транслокації у ділянки вхідних воріт. *Pseudomonas aeruginosa* займають провідні позиції серед збудників інфекційних ускладнень при опіковій хворобі. За даними наукових досліджень *P. aeruginosa* набувають антибіотикорезистентні. Антибіотики групи аміноглікозидів застосовують для лікування важких інфекційних ускладнень, спричинених синьогнійною паличкою. Аміноглікозиди володіють протимікробною, бактерицидною дією, яка пов'язана з порушенням синтезу білка рибосомами [2, 3, 9].

Висока антибіотикорезистентність *P. aeruginosa* значно ускладнює раціональне застосування антибіотиків. Прогресуюча поліантибіотикорезистентність спонукає до всебічного дослідження чутливості *P. aeruginosa* до аміноглікозидів, прогнозування чутливості клінічних штамів синьогнійної палички з використанням сучасного методу математичного прогнозування [2, 7, 10].

Мета роботи - провести математико-аналітичний прогноз чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa* до аміноглікозидів.

Матеріали та методи

У 2011-2015 рр. обстежено 380 пацієнтів з важкими опіками, котрих лікували у Вінницькій обласній клінічній лікарні імені М.І.Пирогова. До мікробіологічного обстеження хворих входило виділення чистої культури збудника ідентифікація за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями. Чутливість до антибіотиків визначали на початку лікування. Всього від

хворих виділили 127 штамів *P. aeruginosa* (2011 р. - n=27; 2012 р. - n=26; 2013 р. - n=26; 2014 р. - n=23; 2015 р. - n=25). Штами псевдомонад мали типові тинкторіальні, морфологічні, культуральні й біохімічні властивості. Чутливість до гентаміцину, тобраміцину, амікацину визначали методом стандартних паперових дисків на щільному поживному середовищі відповідно до рекомендацій МОЗ України та EUCAST [1, 8].

Результати дослідження чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa* до антибіотиків аналізували, використовуючи математико-статистичні методи. Аналіз дозволив знайти цілком закономірний зв'язок між числовими значеннями ознак, що змінювались, та ймовірністю реалізації цих значень у масі проведених спостережень [6]. Математичне аналітичне прогнозування передбачало визначення реальної чутливості *P. aeruginosa*, екстраполяцію результатів на досліджувану систему, будуючи серію гіпотетичних математичних моделей прогнозованої чутливості синьогнійної палички до аміноглікозидних антибіотиків з використанням нормативного аналізу з конкретизацією значень абсолютного та відносного оптимуму. Прогностичне моделювання реальної чутливості *P. aeruginosa* до аміноглікозидів представляло сукупність математичних формул, які залежали від зовнішніх та початкових умов і часу. Оцінку достовірності і точності кожної розробленої математичної моделі, обґрунтування прогнозу чутливості до протимікробних засобів оцінювали за коефіцієнтом детермінації (r^2). Обробку одержаних даних проводили з використанням ліцензійних пакетів оригінальних комп'ютерних програм "STATISTICA 7"; "Matlab 7.11" [4, 5].

Для кожної вибірки клінічних штамів *P. aeruginosa* з інтервалом в один рік визначали середньоарифметичну величину (M), похибку середньої арифметичної