

УДК 616-001.4-085.33+615.246.2

© В. П. ПОЛЬОВИЙ, К. В. ПАВЛОВИЧ, Р. І. СИДОРЧУК, А. С. ПАЛЯНИЦЯ, І. І. БИЛИК, Р. П. КНУТ,  
Ю. М. МИШКОВСЬКИЙ

Буковинський державний медичний університет

**Мікробіологічне дослідження збудників та асоціантів біотопу гнійно-некротичних процесів м'яких тканин в експерименті**

V. P. POLYOVYY, K. V. PAVLOVYCH, R. I. SYDORCHUK, A. S. PALYANYTSIA, I. I. BILYK, R. P. KNUT, Y. M. MYSHKOVSKYY

Bukovynian State Medical University

**MICROBIOLOGICAL STUDY OF PATHOGENS AND ASSOCIATES OF FESTERING-NECROTIC PROCESSES OF SOFT TISSUES BIOTOPES IN EXPERIMENT**

Результати досліджень видового складу та популяційних рівнів збудників та асоціантів біотопів гнійно-некротичних процесів в експерименті на дрібних експериментальних тваринах показують, що мікроорганізми відіграють важливу роль в ініціюванні запалення та альтерації тканин, а також підтримують розвиток патологічного процесу. Провідними збудниками запального процесу в експерименті є грампозитивні коки (стафілококи та стрептококи), ентеробактерії, псевдомонади. Особливістю динаміки змін мікрофлори біоплівки ран в експерименті є те, що відбуваються зміни як її якісного, так і кількісного складу, в основному за рахунок збільшення патогенетичного значення умовно патогенних факультативних анаеробних та аеробних мікроорганізмів, серед яких слід виділити кишкову паличку, псевдомонади та інші ентеробактерії.

Results of the studies of species composition and population levels of pathogens and associates of biotopes of purulent-necrotic processes in experiments on small experimental animals, show that microorganisms play an important role in the initiation of inflammation and tissue alteration, and support the development of pathological process. The leading pathogens of inflammation in the experiment are the Gram-positive cocci (Staphylococci and Streptococci), Enterobacteria, Pseudomonas. The peculiarity of changes in microflora of biofilm of wounds in the experiment is that there are as qualitative so quantitative changes of composition, mainly by increasing of the pathogenetic significance of opportunistic facultative anaerobic and aerobic bacteria, including *E. coli*, *Pseudomonas* and other enterobacteria.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Лікування та профілактика гнійно-запальних захворювань м'яких тканин та післяопераційних гнійно-запальних захворювань залишається однією з найактуальніших проблем хірургії [4, 9]. У країнах СНД щорічно реєструють до 5 млн пацієнтів з гнійно-некротичними процесами м'яких тканин (ГНПМТ) [3]. У США і країнах Західної Європи близько 10 % всіх випадків госпіталізації припадає на частку хворих з ГНПМТ, а щорічний економічний збиток від них оцінюється в 9–10 млрд доларів [5, 8]. Для адекватної антибактеріальної терапії важливе значення має ідентифікація виду патогенних мікроорганізмів в рані та їх чутливість до антимікробних засобів [6, 7]. Часто підбір антибактеріальних засобів здійснюється емпірично, оскільки при очікуванні результатів мікробіологічного дослідження виділень з рани та антибіограми втрачається дорогоцінний час, що зменшує шанси пацієнта на швидке одужання.

**Мета роботи:** визначити видовий склад та популяційні рівні мікрофлори гнійно-некротичного процесу м'яких тканин в експерименті на щурах.

**Матеріали і методи.** Експериментальні дослідження проведені на 50 білих щурах масою 0,12–0,18 кг, у яких розвиток гнійно-некротичного процесу моделювали шляхом введення у скарифіковану міжлопаткову зону заданої кількості мікроорганізмів, які фіксуються у підшкірній клітковині за допомогою кисетного шва на підготовленому силікагелевому контейнері [2].

При виконанні дослідження керувались загальноприйнятими світовими та вітчизняними нормами відповідно до національних “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах” (Україна, 2001), а також з дотриманням основних положень: “Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин” (1977 р.), GLP (1981 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших на-

укових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р.

Мікробіологічні дослідження здійснювали відповідно до рекомендацій, викладених у джерелах літератури [1]. Одержані цифрові показники піддавали математичній обробці методами описової статистики з використанням програмного пакету Excel® 2010 (Microsoft®).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Вже впродовж 24 год після моделювання в експериментальних тварин спостерігали виражені ознаки гнійно-некротичного процесу, тварини ставали млявими, неохайними, або навпаки, були неспокійними, збудженими (рис. 1). Апетит у всіх тварин погіршувався, більшість тварин не доїдала їжу, вживаючи тільки воду. Краї рани були нерівними, кисетний шов частково прорізувався, виділення були смердючими, але помірними. Ексудат мав рідку консистенцію, сірувато-білий або сірувато-жовтий колір. В поодиноких випадках ексудат був темно-жовтого, навіть світло-коричневого кольору. Головний мікробіоценоз представили золотистий та епідермальний стафілококи

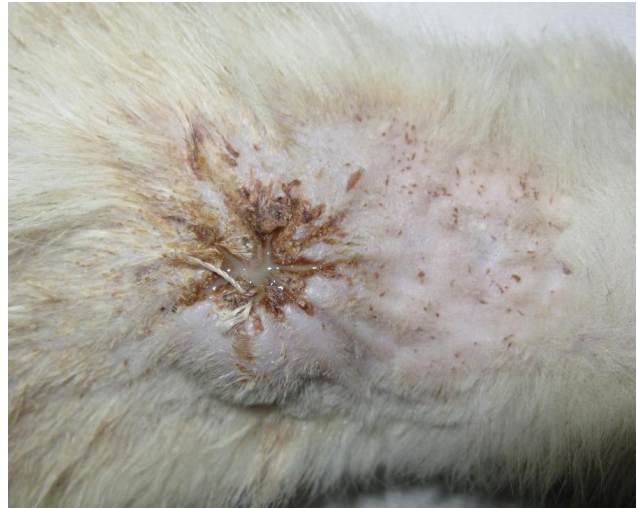


Рис. 1. Вигляд інфікованої рани у експериментальних тварин через 24 год моделювання. Ознаки гнійно-некротичного процесу.

(табл. 1). Додатковими умовно патогенними бактеріями, які обумовлювали гнійно-запальний процес, визначені стрептококи та кишкова паличка. Випадковими, при моделюванні ГНПМТ через 24 години, є бактероїди та умовно патогенні ентеробактерії.

**Таблиця 1. Видовий склад мікрофлори біоплівки ран експериментальних тварин через 24 год моделювання гнійно-запального процесу**

Мікроорганізми	Кількість тестових зразків (n=15)		
	к-сть штамів	$\Delta n$ С%	Pi
1. Облігатні анаеробні бактерії			
Бактероїди	1	6,70	0,03
2. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії			
E.coli	4	26,7	0,13
S.aureus	15	100,0	0,48
S.epidermidis	11	73,3	0,36
Streptococcus spp.	3	37,4	0,10
Enterobacteriaceae	2	13,3	0,07

Примітки: тут і в наступних таблицях: 1)  $\Delta n$  С% – коефіцієнт (індекс) постійності;

2) Pi – коефіцієнт домінування виду (таксону).

На третю добу після моделювання ГНПМТ експериментальні тварини були млявими, неохайними, на подразники реагували повільно. Апетит у тварин був, як правило, зниженим. В цілому загальний стан тварин, порівняно з попереднім періодом, змінився несуттєво. Рани були дещо більшого розміру, краї залишались нерівними, виділення з ран – помірними. Характер ранового ексудату також не змінювався. Зменшувався запах ексудату. Набряк навколишніх тканин зберігався. У результаті динамічних змін видового складу мікроорганізмів біоплівки ран, в експериментальних тварин через 3 доби

моделювання запального процесу (табл. 2) за індексом постійності та видової полідомінантності константними мікроорганізмами стають кишкова паличка і золотистий стафілокок, додатковими – умовно патогенні ентеробактерії та біогенні стрептококи. Псевдомонади і фекальний ентерокок у цей термін бактеріологічного обстеження займають місце випадкових мікроорганізмів біотопу.

Для визначення динаміки змін якісного і кількісного складу мікробіоти біоплівки ран експериментальних тварин був продовжений термін моделювання гнійно-запального процесу до 7 діб. Характер патологічних

**Таблиця 2. Видовий склад мікрофлори біоплівки ран експериментальних тварин через 3 доби моделювання гнійно-запального процесу**

Мікроорганізми	Кількість тестових зразків (n=12)		
	к-сть штамів	Δn C%	Pi
1. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії			
E.coli	7	58,3	0,23
S.aureus	11	91,67	0,36
Str.pyogenes	6	50,0	0,19
E.fecalis	1	8,3	0,03
Enterobacteriaceae	4	33,3	0,13
P.aeruginosa	2	16,7	0,07

змін при огляді експериментальних тварин відзначався певною стагнацією динаміки. Були відсутні значні виділення, набряк та гіперемія країв рани, порівняно з попереднім періодом експерименту, майже не змінювались. Шовкова нитка, якою накладався кисетний

шов на рану, у цей період не виявлялась у жодній експериментальній тварини. Розмір ран збільшувався, але не виходив за межі ділянки, обраної для моделювання. Через 7 діб спостереження (табл. 3) за гнійними ранами експериментальних тварин із модельова-

**Таблиця 3. Видовий склад мікрофлори біоплівки ран експериментальних тварин через 7 діб моделювання гнійно-запального процесу**

Мікроорганізми	Кількість тестових зразків (n=9)		
	к-ть штамів	Δn C%	Pi
1. Анаеробні бактерії			
Bacteroides	2	22,2	0,07
Prevotellae	1	11,1	0,04
2. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії			
E.coli	7	63,6	0,24
S.aureus	7	63,6	0,24
Str.pyogenes	3	33,3	0,10
E.fecalis	2	22,2	0,07
Enterobacteriaceae	4	44,4	0,14
P.aeruginosa	3	33,3	0,10

ним гнійно-некротичним процесом виявлено зростання ролі у запальному процесі умовно патогенних ентеробактерій і кишкової палички, популяційний рівень умовно патогенних ентеробактерій за період після 3 діб зростав на 26,38 %, кишкової палички – на 1,82 %, зростала кількість псевдомонад у біоплівці ран – на 35,46 %, ентерококів – на 7,92 %. Особливістю періоду є те, що у біоплівці ран експериментальних тварин з'явилися анаеробні бактерії: умовно патогенні бактероїди та превотели, які на цей період досягають високого популяційного рівня.

**Висновки.** 1. Результати досліджень збудників та асоціантів біотопів гнійно-некротичних процесів в експерименті на дрібних експериментальних тваринах показують, що мікроорганізми відіграють важливу роль в ініціюванні запалення та альтерації

тканин, а також підтримують розвиток патологічного процесу.

2. Провідними збудниками запального процесу в експерименті є грампозитивні коки (стафілококи та стрептококи), ентеробактерії, псевдомонади.

3. Особливістю динаміки змін мікрофлори біоплівки ГНПМТ в експерименті є те, що відбуваються певні зміни, в основному за рахунок збільшення патогенетичного значення умовно патогенних факультативних анаеробних та аеробних мікроорганізмів, серед яких слід виділити кишкову паличку, псевдомонади та інші ентеробактерії.

**Перспектива наукових досліджень** полягає у визначенні мікробного спектра збудників та обґрунтуванні розробки методів антибактеріальної терапії ГНПМТ.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Сидорчук Р. І. Абдомінальний сепсис : монографія / Р. І. Сидорчук // Чернівці : Вид-во БДМУ, 2006. – 462 с.

2. Пат. 42827 Україна, МПК (2009.01) G 09В 23/28. Спосіб моделювання гнійної рани із заданою мікрофлорою / Павло-

- вич К. В., Сидорчук Р. І., Лікутов Є. А. та ін. – у 2009 00949; Заявл. 9.02.2009; опубл. 27.07.2009, Бюл. №14.
3. Фомін П. Д. Профілактика та лікування гнійно-запальних ускладнень післяопераційних лапаротомних ран в ургентній хірургії : монографія / П. Д. Фомін, О. П. Жученко, М. Д. Желіба. – Житомир : ЖДУ ім. І. Франка, 2009. – 196 с.
4. American Society of Plastic Surgeons Evidence-based Clinical Practice Guideline: Chronic Wounds of the Lower Extremity. – ASPS: Arlington Heights, 2011. – 21 p.
5. Barbul A. The Wound Healing Foundation Prevention Guidelines / A. Barbul // Wound Repair and Regeneration. – 2008. – Vol. 16. – P. 145–188.
6. Drinka P. Swab Culture of Purulent Skin Infection to Detect Infection or Colonization With Antibiotic-Resistant Bacteria / P. Drinka, P. Bonham, J. Christopher // JAMDA. – 2012. – Vol. 13. – P. 75–79.
7. Diagnosing chronic wound infection: Comparison of routine cultures, quantitative microbiology and molecular techniques / Y.M. Frankel, J.H. Melendez, L.B. Price [et al.] // J. Am. Acad. Dermatol. – 2008. – Vol. 58, № 2 – P. 54–142.
8. Kujath P. Complicated skin, skin structure and soft tissue infections – are we threatened by multi-resistant pathogens? / P. Kujath, C. Kujath // Eur. J. Med. Research. – 2010. – Vol. 15. – P. 544–553.
9. Nather A. Epidemiology of diabetic foot problems and predictive factors of limb loss / A. Nather, C. S. Bee, C. Y. Huak // J. Diabetes Complications. – 2008. – Vol. 22. – P. 77–82.

Отримано 16.04.13