

ДИНАМІКА ЗМІН МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ОПІКОВИХ РАН ПРИ ПРОВЕДЕННІ РАНЬО НЕКРЕКТОМІ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ ВТОРИННОГО ЗРІЗУ

ДИНАМІКА ЗМІН МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ОПІКОВИХ РАН ПРИ ПРОВЕДЕННІ РАНЬО НЕКРЕКТОМІ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ ВТОРИННОГО ЗРІЗУ – Досліджено зміни якісних та кількісних показників мікробної контамінації експериментальних опікових ран у щурів при проведенні раннього хірургічного видалення опікового струпа з наступною ксенопластикомією ран епідермальними ліофілізованими ксенодермотрансплантатами та ліофілізованими ксенодермотрансплантатами вторинного зрізу. Визначено, що використання даних біологічних покриттів при ранньому хірургічному лікуванні опікової травми знижує рівень мікробного інфікування ран експериментальних тварин.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖОГОВЫХ РАН ПРИ ПРОВЕДЕНИИ РАННЕЙ НЕКРЕКТОМИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТОВ ВТОРИЧНОГО СРЕЗА – Исследовано изменения качественных и количественных показателей микробной контаминации экспериментальных ожоговых ран у крыс при проведении раннего хирургического удаления ожогового струпа со следующей ксенопластикомією ран эпидермальными лиофилизированными ксенодермотрансплантатами и лиофилизированными ксенодермотрансплантатами вторичного среза. Определенно, что использование данных биологических покрытий при раннем хирургическом лечении ожоговой травмы снижает уровень микробного инфицирования ран экспериментальных животных.

DYNAMICAL CHANGES OF MICROBIOLOGICAL RESULTS OF EXPERIMENTAL BURNT WOUNDS AFTER EARLY NECRECTOMY USING LIOPHYLISATED XENODERMOIMPLANTS OF SECONDARY CUTTING – Changes with quality and quantity results microbial contamination of experimental burnt wounds in rats after early surgical removing necrotical tissue with next xenoplastic of wounds with epidermal liophylisated xenodermoimplants and liophylisated xenodermoimplants secondary cuts were researched. It is determined that the using of the biological cover during early surgical treatment of burnt trauma reduces the stages of microbial infection of the wounds on the experimental animals.

Ключові слова: опіки, ксенодермотрансплантати, мікрофлора.

Ключевые слова: ожоги, ксенодермотрансплантаты, микрофлора.

Key words: burns, xenodermoimplants, microflora.

ВСТУП Опікова травма характеризується високою частотою розвитку інфекційного процесу в рані, що значно ускладнює перебіг опікової хвороби, тому видалення уражених тканин та своєчасне закриття ранової поверхні призводить до зниження інфікованості та прискорення термінів епітелізації ран [13, 14, 15, 16].

Вкрай важливим завданням у комбустіології є розробка та удосконалення тимчасових біологічних ранових покриттів, що виконують функції шкіри та володіють бактеріостатичним ефектом. Феномени пригнічення росту бактерій в рані, яка накрита ало- чи ксенотрансплантатами шкіри виявлені у багаточисленних клініко-експериментальних дослідженнях [5, 6, 7, 17, 18, 19].

На сьогодні досить успішно використовують для місцевого лікування опікової травми препарати зі свинячої шкіри. Доступність та клінічна ефективність даних замінників шкіри дозволили зменшити частоту ускладнень та скоротити терміни лікування опікової хвороби [1, 2, 3, 4].

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самцях масою тіла 200-220 г. У тварин викликали термічний опік ІІІБ ступеня згідно з методикою експериментальної моделі опікової травми [22, 23]. Піддослідних тварин було поділено на 3 групи по 18 особин: І – (контрольна) опечені тварини без лікування; ІІ – опечені тварини, яким проводили ранню некректомію з наступною ксенопластикомією епідермальними ліофілізованими ксенодермотрансплантатами (ЛК); ІІІ – опечені тварини, яким проводили ранню некректомію опікового струпа з наступною пластикомією ран ліофілізованими ксенодермотрансплантатами (ЛК) вторинного зрізу [21].

На 7, 14, 21 доби опікової хвороби, після евтаназії піддослідних тварин у ділянці термічного ураження проводили забір ексудату для бактеріологічного дослідження.

Для проведення бактеріологічного дослідження з поверхні опікової рани одноразовим стерильним ватним тампоном забирали вміст. Використовувались одноразові ватні тампони фірми MEUS S.R.L. (Італія). До і після забору матеріалу тампон зважували на торсійних терезах. Різницю маси приймали за кількість ранового вмісту. Поміщали тампон в 1 мл 0,1 % розчину тритону Х-100 в фосфатному буфері, молярна концентрація якого 0,075 моль/л, старанно струшували кілька хвилин. Готували десятиразові розведення матеріалу, засівали шляхом секторального посіву за методом Шапіро (рис. 1) на живильні середовища кров'яний агар (КА), жовтково-сольовий агар (ЖСА), Ендо, інкубували при оптимальній температурі 37 °С. Через 24 год після інкубації підраховували кількість колоній і результат виражали числом колонієутворюючих одиниць (КУО) на 1 г ранового вмісту [20].

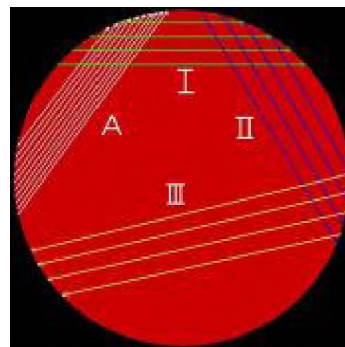


Рис. 1. Секторальний посів за методом Шапіро.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів бактеріологічних досліджень ранового ексудату показав, що вже на 7 добу опіково хвороби спостерігався високий рівень мікробно контамінації опікових ран, на що вказували результати досліджень виділень з ран контрольної групи тварин. Загальне мікробне обсіменіння ран становило 10^6 мікроорганізмів на 1 г ранового вмісту. Переважно рани були контаміновані умовно-патогенною грампозитивною флорою (табл. 1). Рани характеризувались повним некрозом епідермісу, дерми та придатків шкіри. Некротизована дерма була представлена струпом сіро-чорного кольору, щільно спаяного з підлеглими тканинами.

На 14 та 21 доби експерименту кількісний показник інфікування ран досліджуваних тварин продовжував зростати і становив 10^7 мікроорганізмів на 1 г ранового вмісту. Під некротизованим струпом виявлялись ознаки гнійного запалення з вираженими ексудативними явищами, що супроводжувалось повільною крайовою епітелізацією. Під час перев'язок спостерігались значні серозно-гнійні виділення з ран. При цьому тварини споживали в меншій кількості жу та воду, знижувалась рухова активність. Дана симптоматика вказувала на виражені прояви опіково хвороби, що в свою чергу підтверджувалось даними більшості авторів, які зазначають, що ризик клінічно виражено інфекції зростає при загальному мікробному обсіменінні ран понад 10^5 - 10^6 КУО/г [11, 24, 25].

При бактеріологічному дослідженні в контрольній групі тварин на 14 добу після опіку спостерігалась характерна зміна мікробно флори ранових поверхонь. Збільшувався показник контамінації ран представниками родини ентеробактерій.

Найвищий рівень мікробно колонізації ран контрольної групи щурів відмічався на 21 добу опіково хвороби. Грампозитивна флора була представлена стафілококами, стрептококами та ентерококами. Серед грамнегативних мікроорганізмів переважав ріст колоній синьогнійно палички, також відмічався високий рівень обсіменіння ран кишковою паличкою та іншими представниками родини Enterobacteriaceae.

Підсумовуючи вищенаведені дані, необхідно відзначити, що в перші доби після опіково травми, рани контрольної групи тварин переважно були контаміновані асоціаціями грампозитивної флори. В ході експерименту, починаючи з 14 доби, в ранах піддослідних щурів відбувалась зміна мікробних угруповань і вже на 21 добу опіково хвороби, рани тварин колонізували асоціації грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів.

Очевидно, що зміна мікробіоценозу опікових ран досліджуваних тварин пов'язана з транслокацією патогенних мікроорганізмів з кишечника. Вищевказані дані підтверджуються клініко-експериментальними дослідженнями багатьох авторів, які виявляли "феномен транслокації" мікрофлори шлунково-кишкового тракту при опіковій хворобі [26, 27, 28, 29, 30, 31].

Таблиця 1. Загальне мікробне обсіменіння опіково рани I групи тварин

Група мікроорганізмів	Загальне мікробне обсіменіння тканин, КУО		
	7 доба	14 доба	21 доба
Staphylococcus spp.	10^6	10^5	10^6
Staphylococcus aureus	10^4	10^5	10^5
Micrococcus luteus	10^4	10^3	10^3
Bacillus subtilis	10^3	10^3	10^3
Streptococcus pyogenes	10^4	10^5	10^6
Enterococcus faecalis	–	10^3	10^5
Escherichia coli	10^3	10^5	10^6
Pseudomonas aeruginosa	–	10^5	10^6
Інші представники родини Enterobacteriaceae	10^2	10^4	10^5

Для дослідження антимікробних властивостей ліофілізованих ксенодермотрансплантатів піддослідним тваринам (II-III групи) через 24 год після травми проводили ранню некретомію з наступною ксенопластикою.

За допомогою електродерматоми пошарово проводили видалення некротичного струпа до життєздатних тканин. Рани закривали епідермальними ліофілізованими ксенодермотрансплантатами (II група) та ліофілізованими ксенодермотрансплантатами вторинного зрізу (III група). На 7, 14, 21 доби опіково хвороби в піддослідних тварин після евтаназії знімали ксенодермотрансплантати з ранової поверхні і проводили об'єктивну оцінку репаративних процесів та забір матеріалу для бактеріологічного дослідження.

На 7 добу після травми поверхня фіксованих на ранах ксенодермотрансплантатів була просякнута серозним ексудатом, виділення спостерігались як по центру, так і по периферії ран. В місцях неповного висічення некротичних тканин ксенодермотрансплан-

тати відшаровувались, де спостерігались серозні та гнійні виділення.

На 14 та 21 добу експерименту під відшарованими епідермальними ЛК активно формувалась грануляційна тканина рожевого кольору, яка при знятті ксенотрансплантатів та виділяла серозногеморагічний ексудат. По периферії ран добре виражена крайова епітелізація.

Проведення ранньої некретомії з наступною ксенопластиком епідермальними ЛК значно знижувало рівень мікробно інвазії ран (табл. 2). У всі дні експерименту показники загального мікробного числа не перевищували 10^4 мікроорганізмів на 1 г ранового вмісту, при цьому ступінь мікробного обсіменіння ран грамнегативною флорою в середньому складав 10^2 - 10^3 мікроорганізмів на 1 г ранового вмісту. Ефективність раннього хірургічного лікування опікових ран з використанням ліофілізованих ксенодермотрансплантатів підтверджена даними багатьох публікацій [8, 9, 10, 12], при цьому автори відмічали зниження рівня

Таблиця 2. Загальне мікробне обсіменіння опіково рани II групи тварин

Група мікроорганізмів	Загальне мікробне обсіменіння тканин, КОУ		
	7 доба	14 доба	21 доба
Staphylococcus spp.	10 ⁴	10 ⁴	10 ³
Staphylococcus aureus	10 ³	10 ³	–
Micrococcus luteus	10 ³	10 ²	10 ²
Bacillus subtilis	10 ²	10 ²	10 ²
Streptococcus pyogenes	10 ³	10 ³	10 ²
Escherichia coli	10 ²	10 ³	10 ²
Інші представники родини Enterobacteriaceae	–	10 ²	10 ²

інфекційних ускладнень у хворих з опіковою хворобою.

Позитивна динаміка репаративних процесів спостерігалась і в III-й досліджуваній групі тварин. На 7 добу експерименту ксенотрансплантати вторинного зрізу були щільно фіксовані на рановій поверхні як по периферії, так і по центру, виділень не спостерігалось.

На 14 добу після травми при механічному видаленні ЛК вторинного зрізу спостерігався активний ріст грануляції. Острівці паранекротичних ділянок зменшувались в розмірах і не супроводжувались гнійними виділеннями.

При візуальному спостереженні за ранами на 21 добу після травми під ксенотрансплантатами спостерігалось повне розсмоктування залишкових некротів. Рани зменшувались в розмірах у середньому на 25-30 % за рахунок крайової епітелізації.

Про низький рівень мікробної колонізації ран тварин III-ї досліджуваної групи свідчили кількісні показники мікрофлори (табл. 3). В ході бактеріологічних досліджень ранового ексудату на 7 день опікової хвороби загальне мікробне число становило 10³ - 10⁴ мікроорганізмів на 1 г ранового вмісту. Грампозитив-

на флора була представлена асоціацією стафілококів та мікрококів, яка не перевищувала 10³ мікроорганізмів на 1 г ранового вмісту. Грамнегативна флора та інші грампозитивні мікроорганізми не виявлялись. Аналогічні дані було отримано в наступні доби експерименту, лишень на 14 день опікової хвороби під час бактеріологічного обстеження ран висівались поодинокі колонії кишкової палички – 10² мікроорганізмів на 1 г ранового вмісту.

Співставляючи дані бактеріологічних досліджень II та III груп тварин, слід відмітити, що показник загальної мікробної контамінації ран групи тварин з використанням ЛК вторинного зрізу у всі дні експерименту був нижчий, ніж у групі із застосуванням епідермальних ЛК (10⁴ мікроорганізмів на 1 мл ексудату в II групі проти 10³ мікроорганізмів на 1 мл ексудату в III групі), при цьому в меншій кількості висівались як грампозитивні, так і грамнегативні мікроорганізми (в III групі на 7 та 21 доби експерименту грампозитивні мікроорганізми взагалі не висівались). Аналізуючи вищевказані дані, цілком очевидно, що в ЛК вторинного зрізу більш виражена антимікробна активність порівняно з епідермальними ЛК.

Таблиця 3. Загальне мікробне обсіменіння опіково рани III групи тварин

Вид (популяція мікроорганізмів)	Загальне мікробне обсіменіння тканин, КОУ		
	7 доба	14 доба	21 доба
Staphylococcus spp.	10 ³	10 ³	10 ³
Staphylococcus aureus	10 ²	10 ²	–
Micrococcus luteus	10 ²	10 ²	10 ²
Escherichia coli	–	10 ²	–

ВИСНОВОК Бактеріологічний контроль опікових ран (II та III досліджуваних груп тварин) показав, що рання некректомія уражених тканин з використанням ліофілізованих ксенодермотрансплантатів вторинного зрізу значно знижує кількісні показники загальної мікробної контамінації ран. При цьому дане біологічне покриття має більш виражений антимікробний ефект при ксенопластиці опікових ран порівняно з епідермальними ЛК. Тому використання ЛК вторинного зрізу при лікуванні хворих з глибокими термічними ураженнями є ефективним методом профілактики інфекційних ускладнень при опіковій хворобі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ковальчук О.Л., Бігуняк Т.В., Бурдик І.С., Клініко-морфологічне обґрунтування використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів у хворих з опіками III Б-IV ступенів / Шпитальна хірургія. – 2000. – № 2. – С. 150-152.
2. Бігуняк В.В., Дем'яненко В.В., Гуда Н.В. Використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів в комплексному ліку-

ванні опікових хворих при масових термічних ураженнях // Матеріали XLVII підсумково науково-практичної конференції, присвяченої 150-річчю з дня народження академіка І.Я. Горбачевського "Здобутки клінічної і експериментальної медицини". – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – С. 66.

3. Бігуняк В.В., Кузьмич Ю.П., Гуда Н.В. Ліофілізовані ксенодермотрансплантати – заміники шкіри людини // Матеріали наук.-практ. конф. "Створення, виробництво, стандартизація, фармако-економіка лікарських засобів та біологічно активних добавок". – Тернопіль, 2004. – С. 321-324.

4. Гуда Н.В. Антимікробна спроможність консервованої ксеноскіри // Шпитальна хірургія. – Тернопіль, 2005. – № 4. – С. 127.

5. Бігуняк Т.В., Савчин В.С., Гуда Н.В. Спосіб посилення антимікробної активності консервованих ксенотрансплантатів // Матеріали XXI з'їзду хірургів України. – Запоріжжя, 2005. – Т. 2. – С. 9.

6. Нагайчук В.І. Перебіг ранового процесу у хворих з поширеними поверхневими опіками при традиційному та ранньому оперативному лікуванні / В.І. Нагайчук // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – Полтава, 2006. – Том 6. – Вип.1/2. – С. 190-191.

7. Шаповал О.В. Профілактика ранових ускладнень при ранньому хірургічному лікуванні хворих з глибокими опіками / О.В. Шаповал // Український медичний альманах. – Луганськ, 2004. – № 5. – С. 180-183.
8. Грязін О.Є. Оптимізація раннього хірургічного лікування опікових ран шляхом подолання дефіциту донорських ресурсів шкіряного покриву у тяжкообпечених: Автореферат дис. ... канд. мед. наук. – Харків, 2006 – 25 с.
9. Повстяной Н.Е., Коваленко О.Н. Система местного лечения как основа антибактериальной защиты ожоговых ран // II конгресс хірургів Укра ни: зб. наук. пр. – Ки в-Донецьк: Клінічна хірургія, 1998. – С. 478-479.
10. Козинец Г.П., Цыганков В.П., Коваленко О.Н. Результаты раннего хирургического лечения у взрослых // Матеріали ХІХ з'їзду хірургів Укра ни. – Харків, 2000. – С. 320-321.
11. Старикова Н.О. Микробный пейзаж ожоговых ран и проблема антибиотикорезистентности при использовании ксенотрансплантатов / Н.О. Старикова, Д.А. Докашенко, О.В. Вартанян // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2005. – Т 6, № 2. – С. 261-264.
12. Грязин А.Е., Олейник Г.А., Маркелова Е.В. Роль биологических покрытий в сохранении донорских ресурсов кожи // Матеріали міжнародно науково-практично конференці, присв. 45-річчю Донецького опікового центру “Современные вопросы лечения термических поражений и их последствий”. – Донецьк. – 2005. – С. 91-93.
13. Алексеев А.А., Лавров В.А., Яшин А.Ю. Патогенетические предпосылки и возможности современных методов хирургического лечения обожженных // VI съезд травматологов и ортопедов России: Тез.докл. – Н.Новгород, 1997. – С. 55.
14. Алексеев А.А. Проблемы и успехи лечения тяжелообожженных. //Матеріали VII Всероссийской научно-практической конференции по проблеме термических поражений. – Челябинск, 1999. – С. 6-8.
15. Атясов Н.И. Система активного хирургического лечения больных с обширными ожогами // IV Междунар. хирургический конгр. “Раны, ожоги, повязки”. – Тель-Авив, 1992. – С. 152-153.
16. Григорьев А.И., Малахов С.Ф., Парамонов Б.А. и др. Результаты хирургического лечения обширных дермальных ожогов у детей // Вестн. хирургии им. Грекова. – 1996. – Т.155, № 1. – С. 94.
17. Иде Г.Г. Отношение между грануляционной тканью, бактериями и кожными лоскутами у ожоговых больных // Пластическая и реконструктивная хирургия. 22:42-55, 1958.
18. Повстяной Н.Е., Коваленко О.Н. Система местного лечения как основа антибактериальной защиты ожоговых ран // II конгресс хірургів Укра ни: зб. наук. пр. – Ки в-Донецьк: Клінічна хірургія, 1998. – С. 478-479.
19. Бактериологическая характеристика ран при лечении их экстрактом кожи новорожденных поросят / Н.Ю. Шкодовская, И.П. Высеканцев, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирский // Проблемы криобиологии. – 2005. – № 4. – С. 706-711.
20. Министерство Здравоохранения СССР; Приказ № 535 от 22.04.1985. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений.
21. Патент UA 42749 МПК: А61В 17/00, А61В 17/322. Спосіб хірургічно дермопластики / А.О. Ковальчук, О.Я. Бадюк (UA). – №2008. 13128; Заявл. 12.11.2008; Опубл. 27.07.2009, Бюл. №14
22. Tafi Neder Mayer, Alcino Lazaro. A standart burn model using rats // Acta Cir. Bras. – 1999. – Vol. 4. – P. 56-62.
23. Regas F.C., Ehrlich H.P. Elucidating the vascular response to burns with a new rat model // J. Trauma. – 1992. – Vol. 32, № 5. – P. 557-563.
24. Burn Wound Infections: Current Status / B.A. Pruitt, Jr., A.T. McManus, S.H. Kim et al. // World J. Surg. – 1998. – Vol. 22. – P. 135-145.
25. Lad A.R. Epidemiological study of 3341 burn patients during three years in Tehran, Iran / A.R. Lad, R. Alaghebandan, R. Nikui // Burns. – 2001. – Vol. 26. – P. 49-53.
26. Clinical experience with prophylactic antibiotic bowel suppression in burn patients / M. Glorice, F. Jarrett, L. Balisch et al. // Surgery. – 1985. – Vol. 98. – P. 523-527.
27. Clinical use of selective intestinal decontamination: the concept / D. Van Der Waaji, W.L. Manson, J.P. Arends et al. // Intensive Care Medicine. – 1990. – Vol. 16. – P. 212-215.
28. Manson W.L. Alteration of wound colonization by selective intestinal decontamination in thermally injured mice / W.L. Manson, H. Dijkema, H.J. Klasen // Burns. – 1990. – Vol. 16. – P. 166-168.
29. Manson W.L. Selective intestinal decontamination for prevention of wound colonization in severely burned patients: a retrospective analysis / W.L. Manson, H.J. Klasen, E.W. Sauer // Burns. – 1992. – Vol. 18. – P. 98-102.
30. Manson W.L. Selective intestinal decontamination of the digestive tract: a tool for infection prophylaxis in burns? / W.L. Manson, E.W. Sauer // Annals of Mediterranean Club for Burns and Fire Disasters. – 1994. – Vol. VII, № 2. – P. 88-90.
31. Endogenous microbial dissemination following severe burns in rats / N. Li, X. Guang-Xia, W. De Wang et al. // Burns. – 1986. – Vol. 12. – P. 325-329.

Отримано 15.04.10