

Порівняльна оцінка чутливості збудників ранових інфекцій до топічних антибактеріальних засобів

¹Я. Ф. Кутасевич, ¹С. К. Джораєва, ²М. О. Ляпунов, ^{3,4}Е. М. Хорошун, ³М. С. Бірюков, ³В. В. Купріячук, ^{3,4}С. А. Шипілов, ¹І. О. Маштакова, ¹В. В. Гончаренко, ¹О. К. Іванцова

¹ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

²ДНУ «Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» НАН України

³Військово-медичний клінічний центр Північного регіону Командування Медичних сил Збройних Сил України

⁴Харківський національний медичний університет

Резюме. Проблеми лікування постраждалих з вогнепальними пораненнями визначається питанням профілактики та лікування гнійних ускладнень, адже поранення, отримані під час бойових дій, апріорі є інфікованими, а самим небезпечним ускладненням поранень є розвиток гнійної інфекції.

Мета дослідження – вивчити особливості мікробного пейзажу бойових ран та протимікробну активність окремих лікарських засобів по відношенню до екстенсивно резистентних та полірезистентних мікробних агентів з метою розробки алгоритмів в зовнішньої терапії у межах комплексного лікування даних ушкоджень

Матеріали та методи: в роботі використані дані мікробіологічних досліджень 32 постраждалих з вогнепальними пораненнями.

Результати дослідження: За результатами моніторингу збудників гнійно-запальних ускладнень ранових ушкоджень встановлено спектр провідних видів мікроорганізмів: *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *S. haemolyticus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. Виділення з ран флори, стійкої до більшості антибіотиків, диктує необхідність зміни стратегії інфекційного контролю з посиленням заходів попередження нозокоміальної трансмісії та повинно враховуватись у процесі призначення антибіотикотерапії.

Висновок. Отримані результати пілотного дослідження демонструють мікробіологічну ефективність діоксидину, частково мупіроцину і фузидину, які можуть бути застосовані у комплексному лікуванні мікробних ускладнень ранових ушкоджень та розробці оптимальної тактики надання медичної допомоги та лікування поранених, а також можуть слугувати підґрунтям для розробки методу комплексного лікування для певних фаз ранового процесу, що дозволяють одночасно впливати на декілька факторів патогенезу.

Ключові слова: мікрофлора вогнепальних ран, чутливість мікробних агентів до антибіотиків, топічні антибактеріальні засоби

DOI: 10.33743/2308-1066-2023-2-7-10

Вступ

Головне положення воєнно-польової хірургії полягає у тому, що вогнепальна рана завжди містить первинну змішану мікробну флору (первинне мікробне забруднення), а також некротичні тканини, які є сприятливим середовищем для розвитку інфекційного процесу. Проте мікробне забруднення рани ще не є її інфекційним ускладнення [1, 6].

До факторів, які впливають на несприятливий перебіг вогнепальних осколкових сліпих поранень (ВОСП) і вогнепальних осколкових наскрізних поранень (ВОНП), належить суттєве забруднення рани землею або пилом, частинами одягу пацієнта, уламками сторонніх предметів тощо. Варто також враховувати формування значного ранового дефекту при подібних пораненнях. Все вищезазначене свідчить про нагальну актуальність даної проблеми, а саме, пошук та подальше дослідження методів підвищення результативності лікування [5, 11]. Нажаль, найчастіше внаслідок впливу умов навколишнього середовища, методів лікування,

нерациональної протимікробної терапії на різних етапах евакуації пораненого, рани заселяються нозокоміальною мікрофлорою. Чисельні дослідження стверджують, що у більшості ці інфекційні ускладнення спричиняють бактерії, які здатні прикріплюватися до поверхонь та утворювати полімікробні товариства, відомі як біоплівки. Існування у вигляді біоплавок супроводжується значними змінами експресії генів та синтезу додаткових протеїнів, що проявляється резистентністю до антимікробних засобів та факторів імунного захисту. Подолання полірезистентності цих мікроорганізмів до протимікробних засобів та їх діагностика є складним завданням для практичної медицини та мікробіології [7, 8]. Наявність полірезистентності ранових ізолятів, встановлення фактів об'єднання декількох штамів у однакові фенотипи резистентності, що виявляються у географічно віддалених госпіталах, вказують на те, що сучасні бойові поранення контамінуються спорідненими клональними популяціями, які мають єдине джерело походження, найбільш імовірно госпітальне [5, 6, 12].

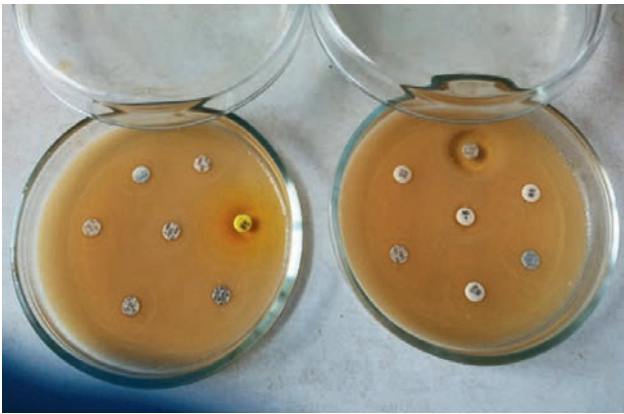


Рис. 1 а – фрагмент визначення чутливості лабораторного ізоляту *K. pneumoniae* до АБП за допомогою диско-дифузійного методу

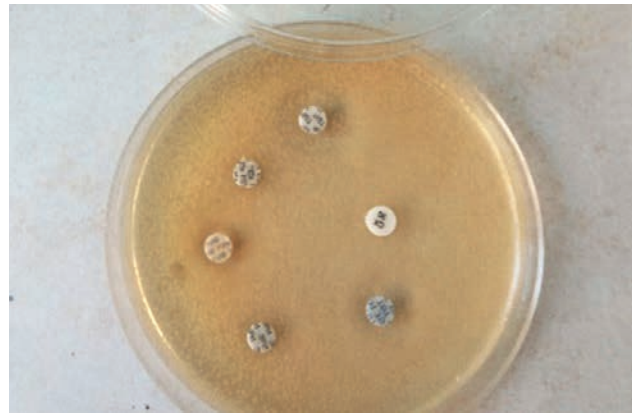


Рис. 1 б – фрагмент визначення чутливості лабораторного ізоляту *S. haemolyticus* до АБП за допомогою диско-дифузійного методу

Застосування зовнішніх засобів для лікування бактеріальних інфекцій шкіри і ускладнених неінфекційних дерматозів дає унікальну можливість безпосередньо впливати на осередок ураження. В такому випадку максимальний інтенсивний вплив сконцентровано саме на ураженій ділянці, а системна дія препарату є незначною, що зводить до мінімуму побічні ефекти терапії. Одним з таких препаратів є мупіроцин – представник власної фармакологічної групи антимікробних засобів, що має високу активність *in vitro* по відношенню до штамів, стійких до інших АБП, та низьку *in vitro* активність щодо представників нормофлори шкіри [3]. Окрім того, одним із напрямів наукового пошуку є раціональне застосування антисептиків, які застосовуються для місцевого лікування гнійних ран. До таких антисептиків можна віднести, зокрема, діоксидин, до якого не розвивається резистентність мікроорганізмів у процесі лікування, але який має широкий спектр антимікробної активності по відношенню до бактерій, грибків, найпростіших та вірусів [4].

Мета дослідження: вивчити особливості мікробного пейзажу бойових ран та протимікробну активність окремих лікарських засобів по відношенню до екстенсивно резистентних та полірезистентних мікробних агентів з метою розробки алгоритмів в зовнішній терапії у межах комплексного лікування даних ушкоджень.

Матеріали та методи

В цілому було обстежено 32 особи (відділяємо з ран, отриманих внаслідок ВОСП та ВНСП), від яких було виділено 45 штамів мікроорганізмів, представників 7 родів. Ідентифікацію вилучених з ранового відділяемого бактерій проводили за допомогою методів класичної бактеріології на підставі вивчення морфологічних, культуральних та біохімічних властивостей [9]. Біологічний матеріал засівали на поживні та диференціально-діагностичні середовища. Визначення чутливості вилучених мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів за допомогою диск-дифузійного методу та інтерпретацію отриманих результатів проводили згідно міжнародних протоколів [2, 10]. Контроль якості методики визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків, якості реагентів, що використовувались (поживні середовища та диски з антибіотиками), проводився з застосуванням контрольних штамів Американської колекції типових культур (ATCC): *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212.

Результати досліджень

У процесі бактеріологічного дослідження встановлено, що рановий дефект характеризувався високим ступенем колонізації бактеріями, який корелював із глибиною та поширеністю патологічного процесу та становив (4,69–7,0) lg КУО/мл. Домінуючими мікроорганізмами (за частотою ізоляції) в рановому вмісті були: стафілококи (3,0–5,69) lg КУО/мл, ентеробактерії (4,69–7,0) lg КУО/мл, ентерококи (3,0–4,69) lg КУО/мл. Крім того, у рановому вмісті визначались аеробні бацили (3,0–3,69 lg КУО/г) і псевдомонади (5,69–7,0 lg КУО/г), які не носили домінуючого характеру в обстежених пацієнтів. Із загальної кількості виділених із ран ізолятів, незалежно від термінів забору матеріалу після поранення, переважна більшість (71,1%) характеризувалася полірезистентністю або екстенсивною резистентністю до антибіотиків. Найвищим рівнем резистентності володіли штами грамнегативних неферментуючих паличок – *P. aeruginosa*, навіть до препаратів, які, в межах своїх класів, відрізняються наявністю анти-псевдомонадної активності.%. Всі ізоляти ентеробактерій мали 100% стійкість до різних поколінь цефалоспоринов, пеніцилінів, фторхінолонів і мали помірну стійкість до колістину. Усі виділені штами *E. faecalis* (у кількості 8) були чутливі до ампіциліну, амоксициліну, піперациліну і піперациліну-тазобактаму (100%), виявились стійкими до доксицикліну (100%), імipенему (87,5%), ципрофлоксацину та левовфлоксацину (87,5%), лінезоліду (62,5%). Переважна більшість представників роду стафілококів були ідентифіковані як панрезистентні або як ізоляти з екстенсивною резистентністю (окремі різновиди обмежено зберігали чутливість до левоміцетину, лінезоліду, фузидину та мупіроцину)

На рисунку 1 а, б представлено фрагмент визначення чутливості вилучених штамів до АБП за допомогою диско-дифузійного методу.

Як видно з рисунку 1 а, б штами виявляли стійкість до системних антибактеріальних препаратів, тому нашу увагу привернули деякі засоби з антибактеріальною активністю, які не застосовуються системно, і тому резистентність мікроорганізмів до них не розвивається або розвивається досить повільно.

Для проведення досліджень (метод «колодязів» [4]) були відібрані наступні топічні засоби: мупіроцин, фузидієва кислота, діоксидин та левоміцетин (даний антибіотик не призначався хворим системно). Важливо зауважити, що більшість штамів ентеробактерій, на відміну від стафілококів, виявились резистентними до дії



Рис.2 а: 1 – вазелінова олія, 2 – диоксидин, 3 – левоміцетин, 4 – фузидин, 5 – мупіроцин



Рис.2 б: 1 – вазелінова олія, 2 – левоміцетин, 3 – диоксидин, 4 – мупіроцин



Рис.2 в: 1 – вазелінова олія, 2 – левоміцетин, 3 – мупіроцин, 4 – диоксидин

хлорамфеніколу при визначенні чутливості за допомогою диско-дифузійного методу, а окрім того стафілококи виявили помірну стійкість до мупіроцину та досить значну до фузидину.

На рисунку 2 (а - в) наведено приклад щодо визначення чутливості до топічних засобів з антибактеріальною дією за допомогою методу «колодязів».

У пілотному досліді щодо вивчення антибактеріальної активності мазі з диоксидином у відношенні клінічних штамів збудників гнійно-септичних ускладнень ран за допомогою методу «колодязів» встановлена її ефективність у 78,6% (11 з 14 штамів; оцінку проведено за великими зонами затримки росту більшості клінічних штамів клебсієл та стафілококів). Аналогічні дослідження з застосуванням мазі, що містить левоміцетин показало, що 50,0% штамів стафілококів були чутливі до його дії, на відміну від штамів *K.pneumoniae* (4 з 4 штамів не виказали чутливості до дії хлорамфеніколу). Більшість ізольованих штамів стафілококів виявили чутливість до мупіроцину.

Таким чином, наведені в цій роботі експериментальні результати свідчать про перспективність досліджень, спрямованих на вивчення антибактеріальної дії мазей,

що містять антибактеріальні речовини, на клінічні штами збудників гнійно-септичних ускладнень ран.

Висновки

1. За результатами моніторингу збудників гнійно-запальних ускладнень ранових ушкоджень встановлено спектр провідних видів мікроорганізмів: *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *S. haemolyticus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*.

2. Виділення з ран флори, стійкої до більшості антибіотиків, диктує необхідність зміни стратегії інфекційного контролю з посиленням заходів попередження нозокоміальної трансмісії та повинно враховуватись у процесі призначення антибіотикотерапії.

3. Отримані результати пілотного дослідження демонструють мікробіологічну ефективність диоксидину, частково мупіроцину і фузидину, які можуть бути застосовані у комплексному лікуванні мікробних ускладнень ранових ушкоджень та розробці оптимальної тактики надання медичної допомоги та лікування поранених.

Перспективи подальших досліджень – розробка методу комплексного лікування для певних фаз ранового процесу, що дозволяють одночасно впливати на декілька факторів патогенезу.

Список літератури

- Военно-польова хірургія: практ. і навч. посіб. для військ. лікарів та лікарів системи охорони здоров'я України / за ред.: Я.Л. Заруцького, В.Я. Білого; М-во оборони України, МОЗ України. Київ: Фенікс. 2018. 544 с.
- Диско-дифузійний метод визначення чутливості до антибіотиків EUCAST. Версія 10.0 (Січень 2022). www.eucast.org
- Зовнішня антибактеріальна терапія: сучасні можливості лікування / Я.Ф. Кутасевич, С.К. Джораєва, О.І. Олійник, Г.М. Біляєв. *Дерматологія та венерологія*. 2019. № 3 (85). С. 24–30.
- Изучение антимикробной активности мазей, содержащих диоксидин, на стандартных штаммах основных возбудителей раневой инфекции [Электронный ресурс] / Е.А. Штанюк, В.В. Минухин, Н.А. Ляпунов и др. *Universum: медицина и фармакология: электронный научный журнал*. 2014. № 5 (6). Раздел 43: Химиотерапия и антибиотики
- Ковальчук В. П., Кондратюк В. М. Динаміка видового складу мікрофлори бойових (вогнепальних та міно-вибухових) ран кінцівок, одержаних під час антитерористичної операції на сході України у 2014 році. *Хірургія України*. 2016. № 2. С. 13–18.
- Мікробіологічні аспекти ранової інфекції у потерпілих внаслідок бойових дій та її комплексне лікування з застосуванням вакуум-терапії / М.Д. Желіба, А.В. Верба, Г.Л. Богущ та ін. *Сучасні медичні технології*. 2019. № 3. С. 50–55.
- Сучасний погляд та перспективи застосування вакуум-терапії у комплексному лікуванні вогнепальних ран (огляд літератури) / К.Ю. Пархоменко, О.І. Цівенко, В.В. Шморган та ін. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Медицина»*. 2023. № 46. С. 89–100.
- Характеристика ефективності лікування вогнепальних поранень з використанням вакуум-терапії / Н.С. Фомін, В.М. Фомина, В.М. Кондратюк та ін. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2020. Т. 24, № 1. С. 106–109.
- A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clinical Infectious Diseases*. 2018. 104 p.
- Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance / A.P. Magiorakos A Srinivasan, R B Carey et al. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012. Vol. 18. P. 268–281. Negative-pressure

References

- Военно-польова хірургія: практ. і навч. посіб. для військовиків лікарів та лікарів системи охорони здоров'я [Military and field surgery: pract. i navch. posib. for viysk. doctors and doctors of the health care system of Ukraine] / za red. Ya.L. Zarutchkogo, V. Ya Biligo; M-vo obrony Ukrainy, MOZ Ukrainy. Kyiv. Feniks. 2018. 544 p.
- Dysko-difuzijnnyy metod vuznashennya chutlivosti do antibiotykov [Disk-diffusion method for determining sensitivity to antibiotics]. EUCAST. Version 10.0 (January 2022). www.eucast.org
- Kutasevych YaF, Dzhoraiava SK, Oliyynk OI et al. Zovnischnyya antibakterialna terapiya: sychasni moglyvosti likuvannya [Modern Antibacterial Therapy: Current Opportunity]. *Dermatologiya i venerologiya*. 2019; 3(85): 24–30.
- Shtanuk EA., Minyrhin VV., Lyapunov NA. et al. Izushenie antimikrobnoy aktivnosti mazy, soderzhashchirh dioksidin, na standartnykh schtammarh vuzbuditeley raneyoy infektsii [Study of the antimicrobial activity of ointments containing diiodine on standard strains of the main causative agents of wound infection] *Universum: meditsina i farmakologiya*. 2014; 5 (6), razdel 43: Khimioterapiya i antibiotiki
- Kovalchuk VP, Kondratuk BM. Dynamika vydovogo skladu mikroflory boyovykh (bognepalnykh ta minno-vyubukhovyykh) ran kintchikov, oderzhanykh pid chas antyterorestychnoy operatsii na shkodi Ukrainy u 2014 rochi [Dynamics of the species composition of the microflora of combat (fire and mine-explosive) wounds of the limbs, received during the anti-terrorist operation in the east of Ukraine in 2014]. *Khirurgiya Ukrainy*. 2016; 2: 13–18.
- Zheliba MD, Verba AV, Bogusch GL et al. Microbiologichni aspekty ranovoy infektsii u poterpylykh vnaslidok boyovyryh diy ta ii kompleksne likuvannya z zastosuvannya vakuum-terapii [Microbiological aspects of wound infection in combat victims and its complex treatment using vacuum therapy]. *Suchasni medichni tekhnologii*. 2019; 3: 50–55.
- Parkhomenko KU, Tchivenko OI, Schmorgun VV et al. Suchsnyy poglyad ta perspektivy zastosuvannya vakuum-terapii u kompleksnomu likuvanni vognepalnykh ran (oglyad literatury) [Modern view and prospects of using vacuum therapy in the complex treatment of gunshot wounds (literature review)]. *Visnyk Kharkovskogo Natsionalnogo universytetu imeni V.N. Karazina. Seriya «Medytsyna»*. 2023; 46: 89–100.
- Fomin NS, Fomina VM, Kondratuk BM et al. Kharakterystyka efektyvnosti likuvannya vognepalnykh poranen z vykorystznnnyam vacu- terapii [Characteristics of the effectiveness of treatment

wound therapy in foot and ankle surgery / K.N. Kunze, K.S. Hamid, S. Lee et al. *Foot Amp Ankle Int.* 2020. Vol 41, № 3. P. 364–72.

11. Topical negative-pressure wound therapy: emerging devices and techniques / R.E. Horch, I. Ludolph, W. Müller-Seubert, et al *Expert Rev Med Devices.* 2020. Vol 17, № 2. P. 139–48.

of gunshot wounds using vac therapy] *Visnyk Vynnychkhogo Natchionalnogo mtdychnogo uni-versytety.* 2020; 24 (1): 106–109.

9. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM).a. *Clinical Infectious Diseases.* 2018: 104

10. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18: 268–281.

11. Kunze KN, Hamid KS, Lee S et al. Negative-pressure wound therapy in foot and ankle surgery. *Foot Amp Ankle Int.* 2020; 41(3): 364–72.

12. Horch RE, Ludolph I, Müller-Seubert W et al Topical negative-pressure wound therapy: emerging devices and techniques. *Expert Rev Med Devices.* 2020; 17(2): 139–48

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE SENSITIVITY OF CAUSES OF WOUND INFECTIONS TO TOPICAL ANTIBACTERIAL DRUGS

¹Kutasevych Ya.F., ¹Dzhoraieva S.K., ²Lyapunov M.O., ^{3,4}Khoroshun E.M., ³Birukov M.S., ³Kupriyanchuk V.V., ^{3,4}Shipilov S.A., ¹Mashtakova I.O., ¹Goncharenko V.V., ¹Ivantsova O.K.

¹SE «Institute of Dermatology and Venereology of the NAMS of Ukraine»

²State Scientific Institution»Institute for Single Crystals»of NAS of Ukraine

³Military Medical Clinical Center of the Northern Region of the Command of the Medical Forces of the Armed Forces of Ukraine

⁴Kharkiv National Medical University;

Abstract. The problems of treating victims with gunshot wounds are determined by the issue of prevention and treatment of purulent complications, because wounds received during hostilities are a priori infected, and the most dangerous complication of wounds is the development of purulent infection.

The purpose of the research is to study the peculiarities of the microbial landscape of combat wounds and the antimicrobial activity of certain drugs in relation to extensively resistant and polyresistant microbial agents in order to develop algorithms in external therapy within the framework of complex treatment of these injuries

Materials and methods. The data of microbiological studies of 32 victims with gunshot wounds were used in the work.

Research results: Based on the results of monitoring the causative agents of purulent-inflammatory complications of wound injuries, a range of leading types of microorganisms was established: *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *S. haemolyticus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. The isolation of flora resistant to most antibiotics from wounds dictates the need to change the strategy of infection control with strengthening measures to prevent nosocomial transmission and should be taken into account in the process of prescribing antibiotic therapy.

Conclusion. The obtained results of the pilot study demonstrate the microbiological effectiveness of dioxidin, partially mupirocin and fusidin, which can be used in the complex treatment of microbial complications of wound injuries and the development of optimal tactics for providing medical care and treatment of the wounded, and can also serve as a basis for the development of a method of complex treatment for certain phases wound process, which allow simultaneous influence on several factors of pathogenesis.

Key words: microflora of gunshot wounds, sensitivity of microbial agents to antibiotics, topical antibacterial agents

Кутасевич Яніна Францівна – доктор мед. наук, професор, директор ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8706-1487>

Джораєва Світлана Карьягдієвна – доктор мед. наук., старший дослідник, завідувачка лабораторно-експериментального відділу ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків, dzhoraevassetlana@gmail.com.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2486-5474>

Ляпунов Микола Олександрович – доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач лабораторії технології та аналізу лікарських засобів ДНУ «Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів НАН України», м. Харків

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5036-8255>

Хорошун Едуард Миколайович – кандидат медичних наук, начальник Військово-медичного клінічного центру Північного регіону Командування Медичних сил Збройних Сил України, Герой України, доцент кафедри хірургії № 4 Харківського національного медичного університету,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1258-1319>

Бірюков Михайло Сергійович – начальник медичної лабораторії (вірусологічної, молекулярно-генетичних досліджень) клініки лабораторної діагностики Військово-медичного клінічного центру Північного регіону, м. Харків

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0008-6525-0883>

Купріянчук Володимир Володимирович – начальник відділення гнійної хірургії хірургічної клініки Військово-медичного клінічного центру Північного регіону, м. Харків

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-7478-4813>

Шипілов Сергій Анатолійович – кандидат медичних наук, провідний хірург Військово-медичного клінічного центру Північного регіону Командування Медичних сил Збройних Сил України, асистент кафедри хірургії № 4 Харківського національного медичного університету, м. Харків

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1689-2213>

Маштакова Ірина Олексіївна – кандидат мед.наук, старший науковий співробітник, старший науковий співробітник відділу дерматології, інфекційних та паразитарних захворювань шкіри ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України». м. Харків

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3592-6896>

Гончаренко Валентина Василівна – кандидат мед. наук, науковий співробітник лабораторії мікробіології, імунології та молекулярної генетики ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8168-0818>

Іванцова Олена Костянтинівна – бактеріолог клініко-діагностичної лабораторії ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України, м. Харків

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9544-0644>