

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені М. І. ПИРОГОВА**

На правах рукопису

Трофіменко Юлія Юріївна

УДК 579.8:615.47:616.24-085

**БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОФЛОРИ, ЩО КОЛОНІЗУЄ
ЕНДОТРАХЕАЛЬНІ ІНТУБАЦІЙНІ ТРУБКИ У ВІДДІЛЕННЯХ
ІНТЕНСИВНОЇ ТЕРАПІЇ**

03.00.07 – мікробіологія

**Дисертація
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

**Науковий керівник
Ковальчук Валентин Петрович
доктор медичних наук, професор**

Вінниця 2015

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПРОБЛЕМИ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ ШТУЧНОЇ ВЕНТИЛЯЦІЇ ЛЕГЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	13
1.1 Епідеміологічна та мікробіологічна характеристика вентилятор – асоційованих пневмоній.....	13
1.2 Чутливість збудників ВАП до протимікробних засобів та розробка методів профілактики.....	24
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	30
2.1 Об'єкти та обсяги досліджень.....	30
2.2 Характеристика використаних у дослідженнях антисептичних протимікробних засобів	31
2.3 Методи дослідження.....	34
2.3.1 Методи дослідження колонізації дихальних трубок мікроорганізмами.....	34
2.3.2 Методи дослідження біологічних властивостей мікроорганізмів, виділених з клінічного матеріалу.....	35
2.3.3 Методи визначення чутливості виділених мікроорганізмів до протимікробних засобів.....	36
2.3.4 Методи дослідження процесу утворення бактеріальних біоплівки на поверхні ендотрахеальних трубок.....	38
2.3.5 Методи дослідження ефективності протимікробного захисту ендотрахеальних трубок.....	39
2.3.6 Методики математичного аналізу результатів дослідження.....	41

РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА СПЕКТРУ МІКРООРГАНІЗМІВ, ЩО КОЛОНІЗУЮТЬ ПОВЕРХНЮ ЕНДОТРАХЕАЛЬНИХ ІНТУБАЦІЙНИХ ТРУБОК.....	42
3.1 Видовий склад та біологічні властивості бактерій, виділених з поверхні ЕІТ.....	42
3.2 Характеристика чутливості виділених мікроорганізмів до антибіотиків та антисептиків.....	52
РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ БАКТЕРІАЛЬНИХ БІОПЛІВОК НА ПОВЕРХНІ ЕІТ.....	66
4.1 Швидкість утворення біоплівки на поверхні ЕІТ мікроорганізмами родів <i>Acinetobacter</i> та <i>Pseudomonas</i>	66
4.2 Чутливість біоплівки грамнегативних неферментуючих бактерій до дії антисептиків.....	74
РОЗДІЛ 5. РЕЗУЛЬТАТИ ПОШУКУ ЕФЕКТИВНИХ СПОСОБІВ ПОПЕРЕДЖЕННЯ КОЛОНІЗАЦІЇ ЕІТ МІКРООРГАНІЗМАМИ.....	83
5.1 Характеристика протимікробних композицій для надання антисептичних властивостей поверхні ЕІТ.....	83
5.2 Характеристика протимікробного впливу ЕІТ з антисептичними покриттям.....	86
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	97
ВИСНОВКИ.....	106
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	108
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЛ ЛІТЕРАТУРИ.....	109

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВАП	- вентилятор-асоційована пневмонія
ВРІТ	- відділення реанімації та інтенсивної терапії
ГНБ -	- грамнегативні неферментуючі бактерії
КУО	— колонієутворююча одиниця
МБсК	— мінімальна бактериостатична концентрація
МБцК	— мінімальна бактерицидна концентрація
ЕІТ	- ендотрахеальна інтубаційна трубка
МОЗ	— Міністерство охорони здоров'я
МПА	— м'ясо-пептонний агар
МПБ	— м'ясо-пептонний бульйон
MRSA	— метицилінрезистентний золотистий стафілокок
ШВЛ	- штучна вентиляція легень
ШКТ	- шлунково-кишковий тракт
ЧАС	— четвертинна амонієва сполука
ІЛ	- інтерлейкін
«+»	— наявність ознаки
«-»	— відсутність ознаки
«±»	— ознака варіабельна

ВСТУП

Актуальність теми. Підвищення показників виживання хворих, що знаходяться у критичному стані, у останні десятиріччя стало можливим завдяки широкому впровадженню нових медичних технологій і, перш за все, прогресивних методів штучної вентиляції легень (ШВЛ). У відділеннях інтенсивної терапії близько 32% пацієнтів, а при черепно-мозкових травмах – 58% хворих, надається респіраторна підтримка[1,2].

Одночасно виникла низка проблем, пов'язаних з підвищенням ризику інфікування органів дихальної системи госпітальними штамами гноєтворних бактерій. Існують переконливі докази 6–21-разового зростання ризику виникнення нозокоміальних пневмоній у хворих з ШВЛ. Частота виникнення особливої категорії, так званих, вентилятор-асоційованих пневмоній (ВАП) сягає 60% усіх пацієнтів, яким проводиться ШВЛ. Кожен день проведення ШВЛ збільшує ризик виникнення ВАП на 3%. Загальний рівень летальності серед хворих з ВАП сягає 50%, з їх числа у 30% хворих пневмонія є основною причиною смерті [3–6].

Розрізняють два основних джерела інфікування легень у хворих з ШВЛ: ендогенне та екзогенне. Ендогенним джерелом є вміст ротоглотки хворого, який аспірується у процесі інтубації і ШВЛ. Внаслідок інфікування із цього джерела, зазвичай, розвиваються ранні пневмонії (до 5-ї доби після інтубації), обумовлені чутливою до антибіотиків мікрофлорою верхніх дихальних шляхів (стафілококи та стрептококи, гемофільні палички) [7–9].

Екзогенним джерелом інфікування легень стає контаміноване повітря та вироби медичного призначення, що контактують з слизовою оболонкою дихальних шляхів (ендотрахеальні трубки, катетери для санації трахеобронхіального дерева та ін.). Ендотрахеальні інтубаційні трубки (ЕІТ) у дихальних шляхах порушують природні захисні механізми (мукоциліарний транспорт секрету назовні, епітеліальний покрив трахеї) і сприяють

накопиченню секрету слизової вище роздувної манжетки, що інфікується госпітальною мікрофлорою з наступною можливістю її проникнення між роздутою манжеткою і стінкою трахеї у легені [10–12].

Відомо, що на поверхні ЕІТ мікроорганізми здатні утворювати біоплівку. При цьому виникає загроза постійної рясної контамінації тканини легень мікробним аерозолем. Бактеріальні клітини, вкарбовані у плівковий матрикс, захищені від зовнішніх впливів і відрізняються високим рівнем толерантності до дії факторів імунітету, антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів. Висока щільність мікробної популяції у біоплівці стимулює обмін генетичною інформацією, у т.ч. детермінантами антибіотикорезистентності [13–16].

У випадках екзогенного інфікування виникають пізні ВАП, викликані високо резистентними до антибіотиків госпітальними штамами мікроорганізмів, у спектрі яких переважають неферментуючі грамнегативні палички з родів *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*. Збудники характеризуються безмежними адаптивними можливостями і високим ступенем стійкості не лише до антибіотиків, а і до антисептиків. Цей варіант ВАП, зазвичай, має важкий перебіг і супроводжується високою летальністю [8, 17].

Серед заходів, важливих для ефективної профілактики ВАП, наведених у науковій літературі, приділяється велика увага методам бактеріологічних обстежень пацієнта, особливостям піклування за хворими у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії (ВРІТ). Бактеріологічній характеристиці стану поверхонь ЕІТ, які можуть виконувати роль постійного резервуару збудників ВАП, належної уваги не приділяється [18, 19].

Таким чином, актуальність теми дослідження обумовлена високими показниками захворюваності на ВАП та важкими їх наслідками, що нерідко призводять до летального виходу хворих. Для розробки ефективних рекомендацій щодо профілактики ВАП необхідні результати всебічних досліджень біологічних властивостей мікрофлори, що колонізує поверхні ЕІТ.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.
Дисертаційна робота виконана в рамках програми планової науково-дослідної

роботи кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова «Експериментальне, клінічне дослідження багатовекторності фармакодинамічних проявів властивостей нових антисептичних препаратів» (№ державної реєстрації 0104U006406).

Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої Ради (протокол № 4 від 13.06.2013 р.) та на засіданні Проблемної комісії «Вірусологія, мікробіологія» МОЗ та НАМН України (протокол № 12 від 22.05.2013 р.).

Мета – підвищити ефективність профілактики вентилятор-асоційованих пневмоній у хворих, що потребують тривалої дихальної підтримки, шляхом вивчення закономірностей колонізації мікроорганізмами поверхонь ендотрахеальних інтубаційних трубок та розробки способу її попередження.

Для реалізації мети поставлені наступні **завдання**:

- визначити видовий склад мікрофлори, що колонізує ендотрахеальні інтубаційні трубки хворих відділень реанімації та інтенсивної терапії в процесі тривалої штучної вентиляції легень;
- вивчити чутливість виділених з поверхонь ендотрахеальних інтубаційних трубок штамів бактерій до антибіотиків та антисептиків;
- дослідити закономірності процесів бактеріального плівкоутворення на поверхні ендотрахеальних трубок та вплив на них антисептиків;
- розробити рецептуру адгезивної антисептичної композиції для надання поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок пролонгованих протимікробних властивостей;
- дослідити ефективність протимікробного захисту ендотрахеальних інтубаційних трубок новою адгезивною антисептичною композицією.

Об'єкт дослідження – колонізація ендотрахеальних інтубаційних трубок мікроорганізмами в процесі штучної вентиляції легень та вплив на мікрофлору цього біотопу антисептиків.

Предмет дослідження – видовий склад мікрофлори, що колонізує ендотрахеальні трубки; її чутливість до антибіотиків та антисептиків; швидкість

формування бактеріальної плівки на поверхні інтубаційних трубок; способи попередження колонізації мікроорганізмами поверхні ендотрахеальних трубок.

Методи дослідження: інформаційно-аналітичний – для вивчення сучасного рівня знань щодо ролі бактеріальної колонізації ендотрахеальних інтубаційних трубок у розвитку вентилятор-асоційованих пневмоній у хворих відділень реанімації та інтенсивної терапії; мікробіологічні – для виділення мікроорганізмів, визначення їх чутливості до антисептиків та антибіотиків, вивчення закономірностей процесів бактеріальної колонізації дихальних трубок та впливу на них антисептичних засобів; біохімічні – для дослідження біологічних властивостей виділеної мікрофлори та її ідентифікації; статистично-аналітичні – для оцінки достовірності відмінностей одержаних показників.

Наукова новизна одержаних результатів. Доповнено наукові дані щодо видового складу мікрофлори, яка колонізує ендотрахеальні інтубаційні трубки в процесі дихальної підтримки хворих відділень інтенсивної терапії; вперше показані відмінності видового складу мікрофлори у пацієнтів різних вікових категорій. Вперше проведено регіональний моніторинг антибіотикочутливості мікрофлори, виділеної з дихальних трубок у відділеннях інтенсивної терапії.

Вперше доведено потенціюючий вплив суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину на специфічну активність антибіотиків карбапенемового ряду та цефалоспорини третього покоління, які використовують для лікування пацієнтів відділень реанімації та інтенсивної терапії.

Вперше визначено динаміку бактеріального плівкоутворення на поверхні поліхлорвінілових ендотрахеальних інтубаційних трубок, встановлено термін формування біоплівки. Новизною характеризуються результати порівняльного дослідження чутливості до широкого спектру антисептиків планктонних та плівкових форм бактерій, які колонізують ендотрахеальні трубки. Вперше встановлено гальмівний вплив суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину на плівко утворення неферментуючих грамнегативних бактерій.

Доведено доцільність використання ряду нових гідрофільних та

гідрофобних адгезивних антисептичних композицій з декаметоксином для надання пролонгованих протимікробних властивостей поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок. Вперше вивчено плівко утворення неферментуючими грамнегативними мікроорганізмами на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок з антимікробним покриттям. Результати досліджень внесено до Реєстру галузевих нововведень МОЗ України (№ 23/38/13)

Практичне значення одержаних результатів. Лікарський антисептичний препарат декаметоксин зареєстровано в державному реєстрі лікарських засобів МОЗ України (реєстраційне посвідчення № UA/12128/01/01 від 13.04.2012 р., наказ № 264: № UA/12180/01/01 від 01.06.2012 р., наказ № 418) у вигляді порошку (субстанція) для промислового виробництва лікарських форм препарату та медичного використання.

Лікарський антисептичний препарат декасан у вигляді антисептичного розчину зареєстровано в державному реєстрі лікарських засобів МОЗ України і дозволено до медичного застосування (реєстраційне посвідчення № UA/5364/01/01 від 03.01.2012 р., наказ № 2 МОЗ України). Лікарський антисептичний засіб декасан виробляє фармацевтичне підприємство ТОВ «Юрія-Фарм».

Перераховані вище реєстраційні посвідчення на лікарські антимікробні препарати згідно наказів МОЗ України діють на всій території України. Результати всебічного дослідження включено до аналітичної нормативної документації на лікарські препарати декаметоксин, декасан.

Підтверджено значення ендотрахеальних інтубаційних трубок як резервуару умовно-патогенних мікроорганізмів, здатних приймати участь у розвитку вентилятор-асоційованих пневмоній. Результати дослідження властивостей виділених штамів мікроорганізмів покладено в основу рекомендацій по корекції методики антибіотикопрофілактики ВАП.

Виявлений високий рівень чутливості мікрофлори, що колонізує ендотрахеальні інтубаційні трубки, до антисептика декаметоксину та потенціюючий вплив декаметоксину на протимікробну активність антибіотиків,

які використовуються у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії, є обґрунтуванням доцільності введення інгалаційного застосування цього антисептика у комплекс заходів профілактики вентилятор-асоційованих пневмоній.

Результати дослідження плівкоутворення мікроорганізмами на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок та впливу на них антисептичного адгезивного покриття показали необхідність використання в клінічній практиці з метою профілактики вентилятор-асоційованих пневмоній дихальних трубок з захищеною від колонізації бактеріями поверхнею.

Впровадження розроблених рекомендацій в медичну практику дозволить зменшити ризики виникнення вентилятор-асоційованих пневмоній у хворих, що потребують тривалої дихальної підтримки, та покращити показники ефективності лікування важкохворих у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії.

Одержані результати впроваджено в навчальний процес і науково-дослідну роботу кафедр мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, Буковинського державного медичного університету, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

Особистий внесок здобувача. Вибір теми дисертаційного дослідження, формулювання мети та завдань для її реалізації, планування дисертаційної роботи було здійснено спільно з науковим керівником. Самостійно автором було проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз наявних за темою дисертаційного дослідження даних наукової літератури.

Автором особисто виконано первинні висіви досліджуваного матеріалу, дослідження біологічних властивостей виділених штамів мікроорганізмів, вивчення їх чутливості до антибіотиків та антисептиків. У окремих сумнівних випадках результатів тестування виділених штамів і ускладненнях ідентифікації остаточно видову належність виділеної культури бактерій визначали з

допомогою співробітників Вінницького міського центру лабораторних бактеріологічних досліджень за результатами лабораторних звітів автоматичного аналізатора VITEK 2 System (BioMerieux, Франція).

Автором самостійно виготовлені зразки антисептичних композицій для надання протимікробних властивостей поверхні досліджуваних дихальних трубок, проведено всі експериментальні мікробіологічні дослідження по вивченню процесів бактеріального плівкоутворення на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок.

Аналіз і узагальнення результатів дослідження, формулювання висновків, підготовку до друку публікацій за матеріалами дисертації автором виконано особисто з використанням консультативної допомоги наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Основні наукові положення дисертації було представлено, обговорено і позитивно оцінено на міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 2010); XV з'їзді українського науково-медичного товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д. К. Заболотного «Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності» (Харків, 2011); на міжнародних науково-практичних конференціях «Актуальні питання стратегії, тактики застосування антисептиків, антибіотиків, дезінфектантів» (Вінниця, 2012, 2014); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни та туберкульозу» (Львів, 2013); Всеукраїнській науково-практичній конференції присвяченій 75-річчю від Дня народження Заслуженого лікаря України, проф. Ф. Г. Кулачека «Актуальні питання хірургії» (Чернівці, 2013); XIII з'їзді товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (Ялта, 2013); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Довкілля і здоров'я» (Тернопіль, 2014); Міжнародній науковій конференції «Мікробіологія та імунологія – перспективи розвитку в XXI столітті» (Київ, 2014); на XV конгресі СФУЛТ (Чернівці – Чикаго -Київ, 2014).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 17 наукових робіт (3 одноосібно). Серед них 6 статей опубліковані у наукових фахових виданнях

України, одна стаття в журналі, який представлений в Scopus і 1 стаття у журналі науково-метричної бази ВІНІТІ РАН, 9 тез у матеріалах міжнародних та всеукраїнських з'їздів, конгресів та науково-практичних конференцій.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена на 127 сторінках комп'ютерного тексту, складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи досліджень», 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел (всього 170 джерела, з яких 108 кирилицею, 62 латиницею), ілюстрована 22 рисунками, 12 таблицями.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПРОБЛЕМИ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ ШТУЧНОЇ ВЕНТИЛЯЦІЇ ЛЕГЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Не зважаючи на розвиток систем інфекційного контролю, нозокоміальна пневмонія посідає третє місце у структурі усіх госпітальних інфекційних ускладнень після інфекцій м'яких тканин і сечовидільних шляхів. У пацієнтів відділень реанімації та інтенсивної терапії, що потребують тривалої респіраторної підтримки в зв'язку з важкою основною патологією, нозокоміальна пневмонія, пов'язана з штучною вентиляцією легень, є однією з основних причин смерті [20-23].

Згідно сучасних критеріїв вентилятор-асоційованими нозокоміальними пневмоніями вважаються запальні ураження легень, що виникли по збігу 48 годин після інтубації при відсутності ознак легеневої інфекції на момент інтубації. Частота подібних ускладнень у хворих, що знаходяться на штучній вентиляції легень, коливається за даними різних авторів у межах від 22% до 55%. За статистикою у США ВАП продовжує перебування хворих у ВРІТ на 26 діб. Вартість лікування одного хворого з ВАП у США наближається до 12000\$. Серед усіх пацієнтів з нозокоміальними інфекціями летальність сягає 20-50%, а летальність хворих з ВАП у середньому становить 80% [24-30].

Не існує єдиної думки щодо провідної ролі окремих видів мікроорганізмів у етіологічній структурі ВАП. Однак, більшість дослідників визнають колонізовані умовно-патогенними бактеріями вузли дихального контуру та ендотрахеальні трубки у якості основного резервуару збудників [31-32].

1.1 Епідеміологічна та мікробіологічна характеристика вентилятор-асоційованих пневмоній

Розвиток ВАП обумовлений аерозольною чи аспіраційною контамінацією нижніх відділів респіраторної системи великою кількістю умовно-патогенних

мікроорганізмів в процесі проведення ШВЛ на тлі зниження ефективності механізмів підтримки стерильності дихальних шляхів.

Розрізняють два джерела інфікування тканин легень: ендогенне та екзогенне. На долю ендогенних приходить близько 80% випадків ВАП [1]. Таким джерелом є мікрофлора рото- та носоглотки, додаткових пазух носа, ШКТ, шкіри. Вважається доведеною мікроаспірація висококонтамінованого бактеріями вмісту ротоглотки 45% здорових людей під час глибокого сну. У хворих ВРІТ з порушеннями свідомості, у стані коми, при розладах ковтання небезпека аспірації ротоглоткового вмісту наближається до 100% [1, 20, 33].

Особлива небезпека обумовлена наявністю у дихальних шляхах ендотрахеальної інтубаційної трубки, яка заважає спонтанній експекторації мокроти, блокує кашлевий рефлекс, усуває можливість захисту дихальних шляхів голосовими зв'язками, пригнічує мукоцільярний кліренс, не забезпечує повної герметизації дихальних шляхів. Ендотрахеальна трубка утворює своєрідний уловлювач для секрету над роздувною манжетою, з якого він потрапляє у нижні відділи дихальних шляхів при зміні їх діаметру під час ковтання, а також при здуванні манжети для зміни положення трубки з метою профілактики розвитку пролежнів у трахеї. На внутрішній поверхні ЕІТ утворюється бактеріальна біоплівка, яка виконує роль постійного джерела контамінованих мікроорганізмами альвеолярних емболів [34].

Ситуація ускладнюється тим, що у зв'язку з неможливістю повноцінного гігієнічного піклування за станом ротової порожнини істотно змінюється склад мікрофлори ротового секрету. Якщо у здорових людей контамінація ротоглотки ентеробактеріями спостерігається не частіше ніж у 10% випадків і не буває довготривалою, то у хворих, що знаходяться у критичному стані, вона виявляється у 75% випадків. По мірі збільшення терміну перебування хворого у стаціонарі зростає вірогідність появи у орофарингеальному вмісті неферментуючих грамнегативних бактерій, у т.ч. *P. aeruginosa*. При цьому ризик виникнення ВАП зростає у 10 разів у порівнянні з особами без колонізації ротової порожнини цими мікроорганізмами [35-37].

Менш частими джерелами ендогенної інфекції, що обумовлює розвиток ВАП, вважаються: транслокація умовно-патогенних бактерій з ШКТ; гематогенне поширення збудників з віддаленого вогнища інфекції. При багатьох критичних станах порушується трофіка стінки кишечника, її моторна, секреторна та бар'єрна функції. При цьому спостерігається ретроградне заселення кишковою мікрофлорою верхніх відділів ШКТ і, у наслідок порушення бар'єрних властивостей ентероцитів, транслокація бактерій у порталний і системний кровообіг[31].

Екзогенним джерелом інфікування легень у пацієнтів ВРІТ є об'єкти оточуючого середовища, що прямо чи опосередковано контактують з дихальними шляхами хворого. До них відносять повітря, контаміноване мікрофлорою інших пацієнтів і медичного персоналу, обладнання для проведення ШВЛ (ендотрахеальні і трахеостомічні трубки, респіратори, складові дихального контуру, катетери для санації трахеобронхального дерева, бронхоскопи та ін.).

У ВРІТ, де протягом короткого часу нерідко надходить декілька пацієнтів у критичному стані при обмеженій кількості апаратів ШВЛ, відсутня можливість для проведення тривалого процесу безумовно ефективної дезінфекції. Мікроорганізми у легені пацієнта можуть потрапляти з інфікованими краплинами аерозолі у потоку газів, з інфікованим конденсатом, а з часом із поверхні колонізованих бактеріями ендотрахеальних і трахеостомічних трубок. Встановлено, що ШВЛ протягом 24 годин, супроводжується інфікуванням 95% дихальних шлангів, 57% вологозбирачів, 55% зволожувачів, що є невід'ємними частинами дихального контуру. Вологе середовище і температурний режим у цих вузлах забезпечують оптимальні умови для розмноження мікрофлори. Інгаляція киснево-повітряної суміші, що проходить через інфіковані зволожуючі ємкості, а також повернення у легені інфікованого конденсату, призводять до рясної контамінації мікроорганізмами тканини легень [38-40].

Науковцями Дагестану бактеріологічно досліджено 468 змивів із різних вузлів дихального контуру і у 36,6% випадків висіви виявились позитивними, з їх

числа у 72% проб виявлена грамнегативна мікрофлора. Найбільш контамінованими виявились внутрішні поверхні гофрованих шлангів і клапанів вдиху та видиху. Ідентичні культури бактерій одержані із трахео-бронхіальних змивів [41].

Особливо небезпечним джерелом інфікування нижніх відділів респіраторного тракту є ендотрахеальні інгалаційні трубки, що виконують роль термінального вузла дихального контуру. ЕІТ не тільки порушують захисні функції слизової оболонки, але швидко вкриваються біоплівкою мікроорганізмів, що надійшли з ендогенних і екзогенних джерел, яка у подальшому знаходиться у щільному контакті з поверхнею слизової оболонки. Акумуляовані у складі біоплівки внутрішньої поверхні ЕІТ мікроорганізми недоступні для впливу природних чинників захисту організму та антибіотиків і є постійним джерелом інфікування дихальної суміші. Доведено, що ЕІТ, які 4 доби перебували у просвіті дихальних шляхів і після екстубації оброблені миючим засобом і щітками, протягом 1 години дезінфіковані хлорвмісним засобом, після того протягом 6 годин стерилізовані 6% розчином перекису водню, у 19% не набувають стерильності. Результати цих досліджень можуть свідчити про глибоке проникнення бактерій у структуру полімеру у процесі експлуатації [42,43].

В процесі ШВЛ існують передумови для реалізації відносно невисокого патогенного потенціалу умовно-патогенних, безпечних у інших випадках, бактерій, що потрапляють у нижні дихальні шляхи. При циклічному розкритті альвеол і дрібних дихальних шляхів, особливо в умовах подачі завищених дихальних об'ємів дихальної суміші, виникає ефект перероздування альвеол, що супроводжується пошкодженням паренхіми легень і збільшенням проникливості легеневих капілярів. Ателектизування альвеол на висоті видиху витісняє сурфактант з альвеол, який в нормі забезпечує фізіологічний рівень сили поверхневого натягу, виконує роль важливого компоненту системи місцевого захисту легень, запобігаючи проникненню в клітини епітелію бактерій. Означене вище подразнення обумовлює активацію медіаторів запалення, що веде до

порушень мікроциркуляції і розвитку нейтрофіл-опосередкованих альтеративних реакцій. Доведено, що наростання кількості цитокінів (IL-8, фактору некрозу пухлин) у бронхоальвеолярній лаважній рідині в динаміці розвитку патологічного процесу є негативною прогностичною ознакою [44-48].

Існує певний зв'язок між терміном розвитку ВАП, етіологічною структурою хвороби і резистентністю збудників до протимікробних засобів. Тому виділяють «ранню нозокоміальну пневмонію», що виникає протягом перших п'яти днів з моменту госпіталізації, і «пізню пневмонію» - після 5-ти діб перебування у стаціонарі. Найбільш частими збудниками «ранніх пневмоній» вважаються чутливі до метіциліну штами стафілококів, пневмококи, *H. influenzae*. Пізні пневмонії частіше обумовлені високорезистентними до антибіотиків MRSA, ентеробактеріями (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.*), *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *S. maltophilia*. Рідше у розвитку нозокоміальних пневмоній приймають участь ентерококи, мікоплазми, хламідії, легіонели. У значному відсотку випадків ВАП з важким перебігом і поганим прогнозом носить полімікробну природу [49-53].

Проведено значну кількість досліджень етіологічної структури ВАП, результати яких коливаються в залежності від профілю відділень, існуючої практики використання антибіотиків та багатьох інших чинників. Однак, основний перелік мікроорганізмів, визнаних збудниками ВАП, єдиний для усіх дослідників [54 -56].

Так, аналіз етіології госпітальних пневмоній у хворих відділення реанімації лікарні швидкої допомоги з різними травматичними ушкодженнями, дозволив встановити провідну роль у виникненні цього ускладнення асоціацій золотистих стафілококів і псевдомонад та золотистих стафілококів і клебсієл [57, 58].

У пацієнтів дитячого віку у 61,2% випадків спостерігали ВАП полімікробної етіології. В складі мікробних асоціацій у 24% випадків виділялись *P. aeruginosa*, у 14,9% -*K. pneumoniae*, у 7,4% -*S. epidermidis*, у 4,1% -*S. aureus*, у 1,7 % –*Acinetobacter spp.* Оксацилінрезистентні штами стафілококів виділялись у

37,5% випадків [59,60,61].

У 96 хворих з абдомінальним сепсисом, у яких розвилась ВАП, у якості збудників у 34,4% були встановлені *P. aeruginosa*, MRSA – у 28,9%, *K. pneumoniae* – у 15,6%, *A. baumannii* – у 15,6%. Автори звернули увагу на те, що пневмококи, гемофільні палички та MRSA, описані як типові збудники «ранніх» пневмоній, у їх дослідженнях не виділялись незалежно від термінів розвитку ускладнення [62].

Етіологічними чинниками ВАП у хворих ВРІТ хірургічного профілю фахівцями Головного військово-медичного клінічного центру МО України визнані грамнегативні неферментуючі бактерії (ГНБ) у 41,2% випадків, представники родини Enterobacteriaceae – у 35,4%, *Staphylococcus* spp. – у 24,0% [63].

Науковці Греції серед збудників ВАП у 30,4% випадків виявили псевдомонади, у 14,3% - акінетобактерії. Клебсиєли і представники роду *Enterobacter* мали питому вагу 10,7% та 1,8% відповідно [64].

Результатами досліджень, проведеними у країнах Північної Європи, показано, що 59% збудників ВАП є грамнегативними бактеріями. Серед них найбільш поширеними видами були *P. aeruginosa* (15,6%), *Enterobacter* spp. (10,9%), *K. pneumonia* (7,0%). Автори поділяють думку інших науковців, що перераховані збудники разом з акінетобактеріями і стенотрофомонадами частіше стають збудниками саме «пізніх» ВАП [65].

У ВРІТ лікувальних закладів Південної Америки після тривалої ШВЛ збудниками ВАП ставали *P. aeruginosa* у 29% випадків, *Acinetobacter* spp. – у 18%, *S. aureus* – у 26%, *Klebsiella/Enterobacter/Serratia* у 19% випадків. Летальність, пов'язана з ВАП, становила 32,1% [66].

Аналіз наведених вище результатів вітчизняних і зарубіжних досліджень свідчить про те, що на відміну від кінця XX сторіччя у сучасній етіологічній структурі ВАП переважають, так звані, «проблемні мікроорганізми». У останній час їх об'єднують у групу ESKAPE-мікробів, підкреслюючи їх здатність вислизати (ухилитись) від дії сучасних протимікробних засобів. Одночасно цей

термін є аббревіатурою з перших букв родових назв проблемних бактерій (Enterococcus, Staphylococcus, Klebsiella, Acinetobacter, Pseudomonas, Enterobacter) [67,68].

Два роди з цього переліку належать до грампозитивних бактерій, а суттєва питома вага у розвитку ВАП притаманна з них лише стафілококам. Патоморфологічно стафілококова ВАП, обумовлена рясною аерогенною контамінацією збудниками респіраторного тракту, зазвичай представлена вогнищами бронхопневмонії, сполученими з широкими крововиливами, некротичним бронхітом, гнійним розплавленням прилеглої легеневої паренхіми, абсцедуванням і бронхогенною дисемінацією процесу. Найбільш значущою проблемою стафілококових ВАП є велика поширеність (близько 60%) серед цього роду збудників метіцилінрезистентності, що супроводжується витривалістю до усього переліку бета-лактамних антибіотиків і обумовлює неефективність емпіричної стартової антибіотикотерапі [8, 17, 20, 43].

З означених у переліку ESKAPE грамнегативних бактерій помітною частотою у розвитку ВАП приймають участь представники родини Enterobacteriaceae, і з їх числа лідерами є клебсієли. Патогенний потенціал клебсієл не викликав сумніву з моменту їх відкриття у XIX сторіччі, адже виділені вони були із тканин хворих, що загинули від деструктивної пневмонії (паличка Фрідлендера). На відміну від класичної Фрідлендеровської пневмонії ВАП, обумовлена клебсієлами, не охоплює цілої долі легень, а є зазвичай вогнищевою. Вогнища ураження розташовуються у задніх відділах легень і мають округлу форму. Синтезовані збудниками капсульні полісахариди надають слизову клеєподібну консистенцію ексудату і високу в'язкість харкотинню. У центральних відділах пневмонічних вогнищ мікроскопічно збудники виявляються переважно у фагоцитованому вигляді. На периферії вогнищ збудники, що розташовані у вільному стані, цілком заповнюють просвіт альвеол. Основні проблеми у боротьбі з клебсієльозними ВАП обумовлені здатністю більшості штамів до продукції β -лактамаз розширеного спектру дії, а також метало- β -лактамаз, що забезпечують збудникам резистентність навіть щодо

найсучасніших антибіотиків карбапенемового ряду[17, 69-73].

Загальновизнаною тривожною тенденцією останніх років є істотне зростання у етіологічній структурі нозокоміальних інфекцій різної локалізації мікроорганізмів, віднесених у групу грамнегативних неферментуючих бактерій. Представники цієї групи бактерій поширені у оточуючому людину середовищі і тільки окремі з них види мають клінічне значення. Більшість із клінічно значимих ГНБ володіють високим ступенем генетичної спорідненості з бактеріями роду *Pseudomonas* і ще у 90-х роках минулого сторіччя у ньому і об'єднувались. З удосконаленням молекулярно-генетичних та інших методів диференціації у окремі роди були виділені *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*. Важливою спільною ознакою бактерій перерахованих родів є безмежний адаптивний потенціал, що виявляється високою витривалістю до дії антибіотиків, антисептиків і дезінфектантів та здатністю до швидкої колонізації предметів лікарняного середовища [74, 75].

Перший спалах госпітальної інфекції, обумовленої *P. aeruginosa*, описаний ще у 1897 році. У сьогоденні причиною понад 30% випадків госпітальних інфекцій різної локалізації у пацієнтів ВРІТ є саме цей вид збудників, при цьому, саме у етіології ВАП питома вага *P. aeruginosa* є найвищою.

Псевдомонади вегетують у воді, ґрунті, легко колонізують будь-які об'єкти побуту людини, де забезпечена достатня вологість. У здорових людей вони зустрічаються у кишечнику, на шкірі пахвинної та підпахвинної ділянок. Пацієнти ВРІТ, що знаходились у відділенні протягом тижня, з частотою 23,4% виявляються контамінованими псевдомонадами, через два тижні цей показник сягає 57,8%. Передача збудника найчастіше відбувається через посуд, раковини, ручки кранів для води, вологі рушники спільного використання [76,77].

Адгезія до клітин епітелію у псевдомонад реалізується мікрворсинками, нейрамінідаза збудника від'єднує залишки сіалових кислот від рецепторів епітелію і тим полегшує специфічну взаємодію. Збудники утворюють капсулу полісахаридної природи, синтезують велику кількість альгінату, які захищають

їх від дії антитіл і фагоцитозу. Здатністю пригнічувати синтез білків у клітинах і спричиняти цитотоксичний вплив володіють екзотоксин А та піюціанін псевдомонад. Збудники продукують еластазу, фосфоліпазу С, лейкоцидин. Важливою з клінічної точки зору є наявність паличок синьо-зеленогонової системи кооперативної чутливості, що забезпечує при досягненні певної чисельності популяції продукцію збудниками сигнальних молекул – гомосеринлактонів, які різко посилюють продукцію позаклітинних факторів вірулентності і тим провокують системну запальну відповідь [75, 78, 79, 80].

Продуковані збудником ферменти та токсини обумовлюють некроз стінок альвеол, дрібних бронхів та судин, що призводить до розвитку тромбозу і крововиливів. Бактеріальний васкуліт при синьогнійній ВАП відіграє провідну роль у дисемінації збудників, чим пояснюється висока частота септичних ускладнень. У зонах ураження мікроскопічно завжди виявляється порівняно незначна кількість клітин запалення, завдяки потужному пригнічуючому впливу псевдомонад на процеси фагоцитозу. Синьогнійні ВАП характеризуються найважчим, у порівнянні з іншими збудниками, перебігом та летальністю у 76% випадків [20, 81, 82].

Другими за частотою виділення з клінічного матеріалу представниками ГНБ є *Acinetobacter* spp., які тривалий час вважались водними малопатогенними бактеріями. Цей рід характеризується фенотиповою гетерогенністю і нараховує 18 генетичних видів, серед яких найбільше клінічне значення мають *A. baumannii* та *A. lwoffii*. У 25% здорового населення акінетобактерії колонізують шкіру міжпальцевих проміжків стоп, пахвинних западин.

Поширеність госпітальних інфекцій, обумовлених акінетобактеріями, коливається у різних географічних зонах і вища у країнах з жарким кліматом. Під час війни у В'єтнамі ці мікроорганізми були основною причиною нагноєнь вогнепальних поранень. У ВРІТ лікувальних закладів Китайської народної республіки акінетобактерії виділяються понад у 2 рази частіше, ніж у таких самих клініках США. Зростання захворюваності, обумовленої *Acinetobacter* spp., у Великобританії та США відмічено після початку війни у Іраку і надходженні

поранених із зони бойових дій. У Ізраїлі в останні десятиріччя акінетобактерії мають найвищу питому вагу у етіологічній структурі ВАП та госпітальних бактеремій. Результатами бактеріологічного дослідження у одному з шпиталів Ізраїлю було виявлено контамінацію акінетобактеріями 12% мобільних телефонів персоналу. В країнах північної півкулі спостерігається чітка літня сезонність зростання числа випадків акінетобактерної інфекції [83-85].

Вірулентність *Acinetobacter* spp. обумовлена високою адгезивною здатністю, капсулоутворенням, продукцією високоактивних ліполітичних ферментів, продукцією токсинів, що викликають загибель і руйнацію лейкоцитів, потенціальною токсичністю ліпополісахаридів клітинної стінки. Зростання частоти акінетобактерної інфекції у останні роки свідчить про недостатність вивчення і недооцінку їх патогенного потенціалу. Між тим, питома вага *Acinetobacter* spp. у етіології госпітальних уражень дихальної системи за даними різних авторів коливається у межах від 3,5% при звичайних нозокоміальних пневмоніях до 53,8% при «пізніх» ВАП [75, 85, 86].

Однією з найважливіших для епідеміології госпітальних інфекцій, в т.ч. ВАП, властивостей, що об'єднує не лише представників окремих родів ГНБ, але й стафілококи, клебсієли, рід *Enterobacter* та ін., є здатність утворювати на поверхнях різноманітних об'єктів оточуючого людину середовища біоплівки. Біоплівка є багатошаровою мікробною структурою, у якій бактеріальні клітини прикріплені до поверхні розділу фаз і одна до одної, і вкриті біополімерним матриксом. Виникнення спільнот мікроорганізмів, що мають плівчасту структуру, є одним із способів виживання бактерій у мікробіоценозі. Вважається, що 90% вивчених видів таксономічного домену *Bacteria* здатні до плівкоутворення. Встановлено, що бактеріальні біоплівки є патогенетичним чинником хронічних інфекційних процесів у людей. В першу чергу це стосується процесів, пов'язаних з наданням медичної допомоги, особливо із застосуванням імплантатів (катетерів, ендопротезів, ЕІТ). Слід зазначити, що широкомасштабні дослідження морфології біоплівок, механізмів їх утворення, особливостей формування за різних умов та впливу різних факторів знаходяться лише на етапі

становлення [87-93].

Основним структурним компонентом біоплівки є матрикс, представлений мікробними екзополісахаридами, білками і гліколіпідами. Екзополімери складають 85% маси біоплівки, бактеріальні клітини – 15%. Клітини плівки розташовуються не хаотично, а упорядковані у вигляді грибоподібних утворень і «стовпів», «цементованих» екзополісахаридами. Матрикс розділений каналами, заповненими водою, має порожнини. По каналах транспортуються поживні речовини та кисень, одночасно видаляються продукти життєдіяльності бактерій. Багатошарова топографія впливає на метаболізм і фізіологічну активність клітин. У глибоких шарах розташовуються клітини, метаболізм яких переключений на анаеробний тип дихання. Сформовані (зрілі) плівки постійно виділяють у оточуюче середовище планктонні клітини і цілі фрагменти, здатні вкривати біоплівкою нові поверхні [94 -97].

Взаємостосунки окремих субпопуляцій мікроорганізмів у складі біоплівки регулюються недавно відкритим механізмом міжклітинних комунікацій, що одержав назву «quorum sensing». Механізм діє шляхом продукції бактеріальними клітинами сигнальних молекул, які забезпечують колективну координацію експресії і репресії генів в популяції бактерій. Завдяки наявності цього механізму забезпечується внутрішньопопуляційне диференціювання клітин, регулюються ростові процеси, напрямки руху клітин, апоптоз [14, 98-100].

Бактеріальні клітини, вкарбовані у матрикс, захищені від зовнішніх впливів і відрізняються високим рівнем толерантності до дії факторів імунітету, антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів. Полімери матриксу виконують роль молекулярного фільтру, що запобігає хімічним впливам на клітини. Окремі елементи матриксу (гліцерол-фосфорильовані бета-глюкани *P. aeruginosa*) не просто уповільнюють дифузію, але й активно сорбують дрібні молекули протимікробних засобів. У полімікробних плівках антибіотикорезистентні клітини виділяють ензими чи антибіотикзв'язуючі протеїни, що активно захищають інших членів мікробної спільноти від дії антибіотиків. Висока щільність мікробної популяції у біоплівці стимулює обмін генетичною

інформацією, у т.ч. детермінантами антибіотикорезистентності [13, 15, 101-103].

Обмеження поживних речовин і простору у біоплівці обумовлюють формування у її складі субпопуляції метаболічно неактивних клітин-персистерів. Відсутність у таких клітинах процесів транскрипції, трансляції, реплікації і будь-якого біосинтезу, робить їх невразливими до дії антибіотиків і хіміопрепаратів, що блокують у звичайних бактеріальних клітинах ці процеси. Таким чином, можливості впливу на патогени, що знаходяться у складі біоплівки, істотно обмежені [104-107].

Гідрофобність поверхні полімерних виробів медичного призначення (венозні та уретральні катетери, ЕІТ) сприяє швидкій адгезії на них бактерій, що супроводжується утворенням біоплівок і перетворює імплантований у тканини предмет у постійний резервуар небезпечних збудників [108-110].

Узагальнюючи викладне вище, слід зазначити, що ШВЛ є інвазивним медичним втручанням, яке створює умови для важкого інфекційного ускладнення – ВАП. У етіології цього ускладнення, зазвичай приймають участь мікроорганізми, що характеризуються високим рівнем резистентності до хімічних впливів. Розробка запобіжних заходів потребує подальшого детального вивчення особливостей епідеміології та етіології цієї важливої медичної проблеми.

1.2 Чутливість збудників ВАП до протимікробних засобів та розробка методів профілактики

Основним методом запобігання розвитку ВАП у ВРІТ є антибіотикопрофілактика. Однак, її ефективність далеко не завжди відповідає практичним потребам завдяки поширенню полірезистентних до антибіотиків штамів мікроорганізмів. Результатами багаторічних багатоцентрових досліджень доведено, що мікрофлора, яка циркулює в ВРІТ, на 25% більш резистентна до протимікробних засобів, у порівнянні з рівнем резистентності усього лікувального закладу [8, 111-113].

Так серед стафілококів, що приймають участь у розвитку ВАП, доля MRSA сягає 64,9%. Резистентність представників цього роду до макролідів гентаміцину та фторхінолонів виявлена більш ніж у 70% штамів.

Близько 88% штамів клебсієл, виділених у ВРІТ, є продуцентами бета-лактамаз розширеного спектру, 70% виявляються резистентними до цефалоспоринів III покоління і у 47,1% -до цефепіму [114].

Серед псевдомонад спостерігається повна нечутливість до переважної більшості наявних антибіотиків. До антипсевдомонадних цефалоспоринів III покоління і цефепіму чутливість виявляють від 14% до 36% штамів. Резистентними до амікацину є понад 48% штамів, до ципрофлоксацину – близько 60% штамів. Навіть до антибіотиків карбапенемового ряду рівень резистентності носить небезпечний характер і сягає 50%. При цьому близько 28% штамів псевдомонад, виділених при цій патології, мають полірезистентність до усіх існуючих протимікробних засобів для системного застосування [115,116].

Не менш проблемними є інші представники ГНБ. Чутливими до цефалоспоринів III – IV поколінь та ципрофлоксацину виявляється не більше 30% штамів акінетобактерій. Понад 20% представників цього роду нечутливі до карбапенемів та аміноглікозидів, резистентність до піперациліну сягає 97%. Чутливість *Stenotrophomonas maltophilia* до будь-яких протимікробних засобів, крім ко-тримоксазолу, становить від 0 до 20% штамів [41, 85, 117, 118].

Наведені результати досліджень рівня резистентності збудників ВАП до антибіотиків отримані рутинними бактеріологічними методами. Вище обговорювались дані щодо особливостей чутливості до хімічних впливів бактерій, які знаходяться у складі біоплівки. Існує досить давня думка про необхідність перевірки ефективності будь-якого протимікробного засобу щодо адгезованих мікроорганізмів і визнання ефективними тих концентрацій препаратів, які здатні знищувати бактерії, інкорпоровані у біоплівку [119]. Однак, дана пропозиція науковцями мало приймається до уваги і проблему не можна вважати досконало вивченою.

У окремих повідомленнях міститься інформація про те, що для знищення

мікроорганізмів, структурованих у плівку, необхідні концентрації антибіотиків у 10 -100 разів вищі, ніж для планктонних форм мікроорганізмів. Комбінація тобраміцину і іміпенему певної концентрації зменшувала кількість життєздатних клітин у зависі у 100000 разів при експозиції дії 6 годин і лише у 1000 разів – кількість життєздатних клітин того ж штаму у біоплівці після 10-годинної експозиції [108]. Згадане явище потребує подальшого детального дослідження.

Враховуючи подібний загрозливий стан витривалості основних збудників ВАП до дії протимікробних засобів системного застосування розроблено великий перелік рекомендацій з профілактики цієї патології. Більшість з них стосується особливостей піклування за пацієнтами ВРІТ. Так доведено, що ВАП виникають рідше за умови розташування хворого з піднятим до 45° головним кінцем ліжка. Відмічається, що назотрахеальна інтубація спричиняє вищі ризики виникнення ВАП, у порівнянні з оротрахеальною. Підкреслюється необхідність постійної аспірації секрету з надманжеткового простору та суворого контролю відсутності у ньому рідини перед здуттям манжети, постійного видалення конденсату із вологозбирачів. З метою зменшення інтенсивності орофарингеальної колонізації рекомендується обробляти слизову оболонку порожнини рота пацієнтів 0,12% розчином хлоргексидину [12, 19, 56, 120].

Ефективним запобіжним заходом є включення у дихальний контурміж вологозбирачем і шлангом вдиху бактеріальних гігроскопічних або гідрофобних фільтрів. Однак відмічено, що з часом використані фільтри збільшують опір повітряному потоку, що небажано при проведенні ШВЛ. Крім того, описані небезпечні випадки блокування фільтрів внаслідок неправильної орієнтації фільтра або його намокання при неефективності вологозбирачів [40, 121].

В процесі оцінки профілактичної ефективності окремих дезінфекційних заходів у ВРІТ встановлено низький рівень ефективності у профілактиці ВАП дезінфекційних засобів на основі четвертинних амонієвих сполук (ЧАС) з глутаровим альдегідом та ЧАС з ортофосфорною кислотою. Заміна цих дезінфектантів на препарати на основі натрієвої солі дихлорізоціанурової кислоти дозволило зменшити частоту ВАП у лікувальних закладах з 54,6% до

40,2%. Нанесення на поверхню стін ВРІТ біоцидної фарби на основі похідних гуанідину істотно зменшило питому вагу *P. aeruginosa* у етіологічній структурі ВАП. Відмічена висока профілактична ефективність щодо частоти ВАП методу аерозольної високодисперсної дезінфекції з використанням розчинів ЧАС, ортофосфорної кислоти та пероксиду водню [122, 123].

Серед заходів діагностики, важливих для ефективної профілактики ВАП, наведених у науковій літературі, приділяється велика увага методам бактеріологічних обстежень пацієнта. При цьому підкреслюється важливість правильного вибору матеріалу для дослідження і методикам його забору, наводяться переваги інвазивних методів одержання матеріалу у порівнянні з іншими. Як один із малоінформативних методів одержання корисних даних розглядається дослідження змивів з катетерів, які використовують для ендотрахеальної аспірації [124– 126]. Бактеріологічним дослідженням поверхні ЕІТ, нажаль, належної уваги не приділяється.

Між тим, вочевидь ЕІТ, як і інші полімерні вироби медичного призначення, вкриті мікробною біоплівкою, при довготривалому перебуванні у організмі виконують роль постійного джерела інфекції. Усвідомлення цього факту вимусило ряд авторів вести пошук запобіжних колонізації бактеріями способів впливу на поверхню медичних полімерів [127, 128]. Досить ефективним виявилось сріблення поверхні протезів серцевих клапанів [129, 130]. Існує позитивний досвід використання антисептичних властивостей іонів срібла для надання антимікробних властивостей поверхні інших виробів медичного призначення. Попередження утворення біоплівок на поверхні венозних катетерів досягали їх обробкою сульфадіазином срібла та хлоргексидином [131– 134].

Не лише хлоргексидин, але й інші поверхнево-активні антисептики успішно використовуються для протимікробного захисту виробів медичного призначення. Ефективність надання протимікробних властивостей центральним венозним катетерам за допомогою бензалконію хлориду підтверджено в клінічних умовах. Розроблено рецептуру адгезивного протимікробного покриття поверхні уретральних катетерів на основі декаметоксину [135– 137].

Використання з профілактичною і лікувальною метою вітчизняного антисептика з класу четвертинних амонієвих сполук декаметоксину варто особливої уваги. Синтезований у 60-х роках минулого сторіччя препарат знайшов широке використання у медичній практиці. Переконливо доведено високу протимікробну активність декаметоксину у відношенні антибіотикорезистентних штамів стафілококів, стрептококів, ентеробактерій, неферментуючих грамнегативних паличок, дріжджоподібних грибів, дерматофітів, найпростіших, ліпофільних вірусів. Показані переваги препарату за показниками протимікробної активності у порівнянні з іншими антисептиками [138– 141].

Декаметоксин підвищує проникливість клітинних оболонок бактерій, пригнічує дегідрогеназну активність, що впливає на транспорт іонів через біологічні мембрани. Препарат здатен елімінувати плазмідні бактеріальні клітини, а також пригнічує процес їх кон'югативної передачі. Відома здатність декаметоксину у суббактеріостатичних концентраціях підвищувати чутливість бактерій до антибіотиків. До декаметоксину у мікроорганізмів не формується резистентності [142– 145].

Експериментально доведено наявність протизапальної дії у декаметоксину, механізм якої пов'язаний з пригніченням продукції серотоніну клітинами, антиексудативним і протинабряковим ефектом. Препарат має імуномодуючі властивості, здатен посилювати вплив гуморальних факторів неспецифічної резистентності на мікробні клітини [146–148].

У різних лікарських формах декаметоксин широко використовується у медичній практиці. Чисельними клінічними спостереженнями підтверджена висока ефективність застосування препарату у практиці абдомінальної та гнійної хірургії, отоларингології, гінекології та клініках інших профілів [149–157].

Проведено значну кількість експериментальних і клінічних досліджень ефективності надання за допомогою декаметоксину пролонгованих протимікробних властивостей різноманітним виробам, що застосовуються у медичній практиці. Розроблено технологію електрофізичної імпрегнації

декаметоксином волокнистих матеріалів медичного призначення. Одержані таким чином хірургічні шовні нитки зберігають протимікробну активність у тканинах протягом 20 діб і забезпечують ранозагоювання без гнійно-запальних ускладнень[158, 159]. Створено декілька рецептур антисептичних композицій з адгезивними властивостями для протимікробного захисту поверхні полімерних виробів медичного призначення та перев'язувального матеріалу [160–165].

Успіх широкого профілактичного застосування декаметоксину у різних галузях медицини дозволяє вважати перспективним використання цього препарату у профілактиці ВАП [166]. Необхідні поглиблені дослідження складу та біологічних властивостей мікрофлори, що колонізує ЕІТ, її чутливості до декаметоксину та інших сучасних антисептиків. Не вивченими залишаються відмінності у чутливості до антисептиків планктонних форм бактерій та тих же мікроорганізмів у складі біоплівки на поверхні ЕІТ, вплив антисептиків на процеси плівкоутворення. Результати досліджень перерахованих явищ сприятимуть розробці схем ефективного використання антисептиків у ВРІТ та вирішенню важливого науково-практичного завдання – підвищення ефективності профілактики ВАП.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Об'єкти та обсяги досліджень

Об'єктами бактеріологічного обстеження були інтубаційні ендотрахеальні трубки, використані у відділеннях інтенсивної терапії військово-медичного клінічного центру Центрального Регіону МО України, Вінницької обласної клінічної дитячої лікарні, Вінницького міського центру матері і дитини.

Всього протягом 2012-2014 років досліджено 84 дихальних трубки, що не менше 4-х діб знаходились у дихальних шляхах пацієнтів, яким у цей період проводилась ШВЛ. Характеристика хворих, у яких використовувались досліджені трубки наведена у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Характеристика пацієнтів, задіяних у дослідженнях

Категорія пацієнтів	Чим обумовлена необхідність ШВЛ	Кількість обстежених
Дорослі	Порушення мозкового кровообігу	18
	Хірургічні втручання	30
Новонароджені	Недоношеність	28
	Хірургічні втручання з приводу вроджених вад розвитку	8
Всього:		84

Мікробіологічні дослідження проведено у відповідності до вимог «Правил влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю ДСП 9.9.5.-080-02», затверджених постановою № 1 Головного державного санітарного лікаря України 28.01.2002 р.

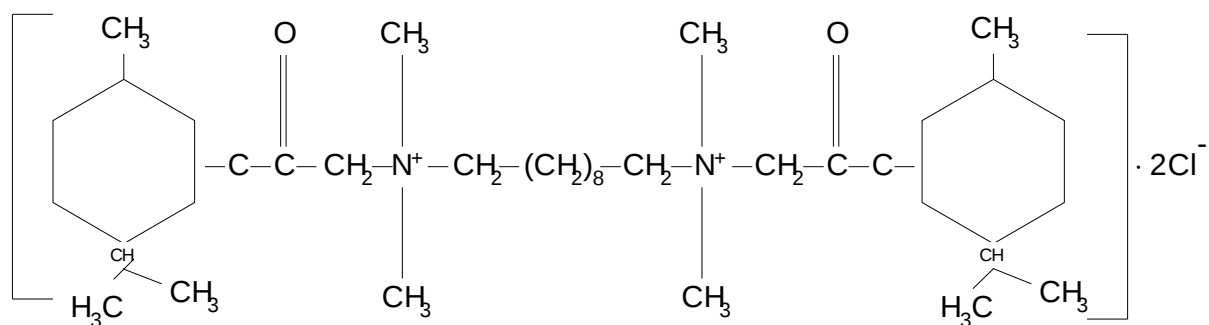
В процесі досліджень виділено 194 штамів мікроорганізмів, досліджено їх

біологічні властивості, чутливість до зареєстрованих в Україні антибіотиків та антисептиків.

2.2 Характеристика використаних у дослідженнях антисептичних протимікробних засобів

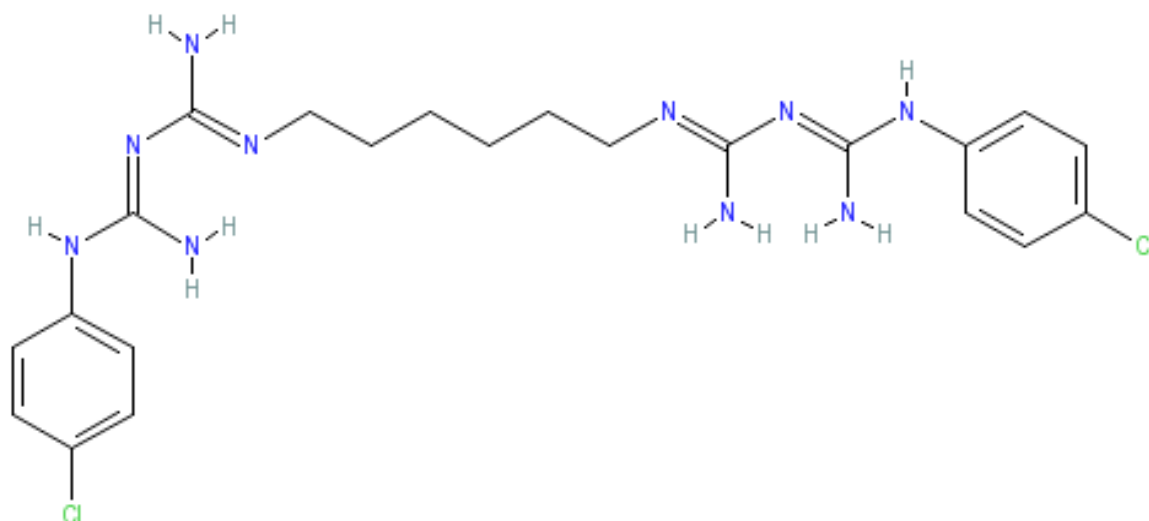
Декаметоксин – [1,10–Декаметилен-біс(N,N-диметилментоксікарбоніл-метил) амонію дихлорид], який належить до групи бісчетвертинних амонієвих сполук. За фізичними властивостями декаметоксин – білий дрібнокристалічний порошок з слабким запахом, легко розчинний у воді та 95% етанолі, практично не розчинний у ефірі.

Декаметоксин має таку хімічну формулу:

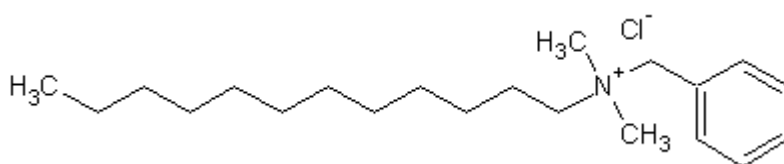


Емпірична формула препарату: $\text{C}_{38}\text{H}_{74}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$. Молекулярна маса – 693,92; температура топлення від 159°C до 168°C . Питоме обертання декаметоксину від $-48,0^\circ$ до $-51,0^\circ$ в перерахунку на суху речовину.

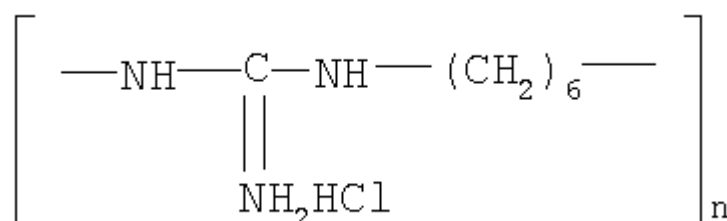
Хлоргексидин – серійний препарат виробництва ПАТ ХФЗ «Червона зірка» (Україна), реєстраційне посвідчення № UA/9766/01/01 від 04.06.2009 р. Препарат являє собою 0,05% водний розчин для зовнішнього застосування. Основна діюча речовина – 4,6-біс-/5-(пара-хлорфеніл)-бігуанідо/-гексин. Емпірична формула препарату: $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_{10}$. Молекулярна маса – 505,446. Має таку хімічну формулу:



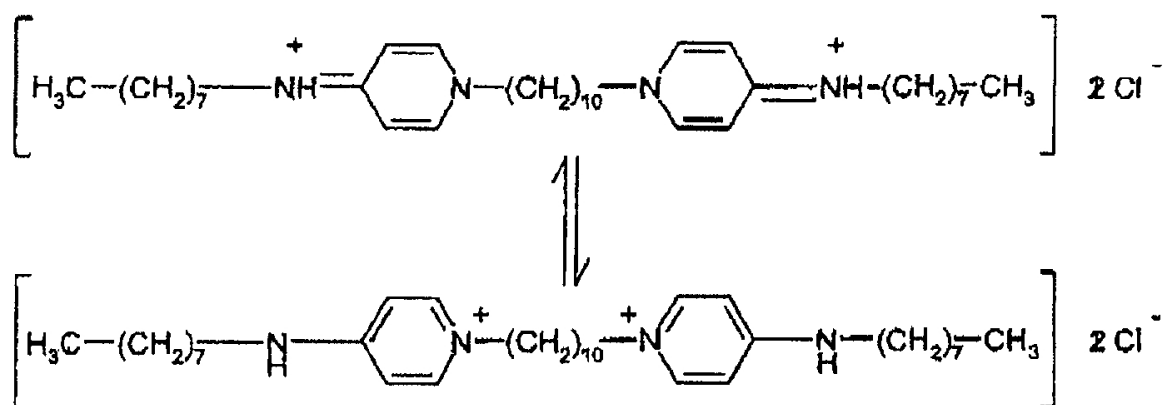
Бензалконію хлорид – алкілдиметилбензиламонію хлорид, білий кристалічний порошок, добре розчинний у воді. Емпірична формула препарату: $C_{21}H_{38}NCl$. Молекулярна маса – 170,662. Поверхнево-активна четвертинна амонієва сполука відома контрацептивними і протимікробними властивостями. Має наступну хімічну будову:



Полігексаметиленгуанідін фосфат – полімер, бактерицидна та фунгіцидна активність якого обумовлена наявністю гуанідинової групи. Емпірична формула препарату: $(C_7H_{16}N_3Cl)_n$. Препарат являє собою кристалічний порошок жовтуватого кольору. Добре розчиняється у воді, етанолі, має наступну хімічну будову:



Октенісепт – серійний препарат виробництва Schulke&MayrGmbH (Німеччина), реєстраційне посвідчення № UA/4056/01/01 від 28.01.2011 р. Вміст основної діючої речовини 0,1 г на 100 мл препарату. Основна діюча речовина N,N-(1,10деканедиилди-1[4Н]-пиридинил-4-іліден)бис-(1-октанамін) дигідрохлорид – октенідину дигідрохлорид. Емпірична формула: $C_{36}H_{62}N_4 \cdot 2HCl$. Молекулярна маса – 623,8. Хімічна речовина з двома катіонактивними центрами у молекулі, має наступну структурну формулу:



Декасан - серійний препарат виробництва ФФ «Юрія-Фарм» (Україна), реєстраційне посвідчення № UA/5364/01/01 від 03.01.2012 р.. Лікарський засіб, що являє собою прозору безбарвну речовину, наступного складу:

декаметоксину (у перерахунку на суху речовину) –	0,2 г
натрію хлориду	– 9,0 г
вода для ін'єкцій	– до 1л.

Горостен – серійний препарат виробництва ФФ «Юрія-Фарм» Україна), реєстраційне посвідчення № UA/2048/01/01 від 07.07.2009 р. свідоцтво про державну реєстрацію дезінфекційного засобу № 000373 від 20.08.2008 р. Лікарський та дезінфекційний засіб, що являє собою прозору безбарвну рідину з слабим запахом лимону, наступного складу, мас. %:

декаметоксин	– 0,025
спирт етиловий	– 15,0

гліцерин	– 5,0
розчин цитралю спиртовий	– 0,5
вода для ін'єкцій	– до 100,0.

Перекису водню розчин 3%– серійний препарат виробництва ПАТ «Фітофарм» (Україна), реєстраційне посвідчення № UA/8214/01/01. Основна діюча речовина – гідроген пероксид. Молекулярна маса – 34,02. Препарат являє собою прозору безбарвну рідину без запаху.

Бетадін – серійний препарат виробництва Egis (Угорщина), реєстраційне посвідчення № UA/6807/03/01. Препарат являє собою 10% водний розчин для місцевого застосування. Основна діюча речовина – поли(1-(2-оксо-1-піролідиніл)етилєн)йодний комплекс – комплексна сполука йоду та синтетичного нетоксичного полімеру полівінілпіролідону. Являє собою в'язку темно-коричневу рідину із слабим специфічним запахом, що у будь-яких співвідношеннях змішується з водою.

2.3 Методи дослідження

2.3.1 Методи дослідження колонізації дихальних трубок мікроорганізмами

В палаті інтенсивної терапії в асептичних умовах забирали сегмент трубки довжиною 3 см, відступивши на 1 см від його дистального кінця, поміщали у стерильну пробірку і протягом 2-х годин доставляли в бактеріологічну лабораторію. Для видалення слизу та неадгезованих мікробних тіл, взятий сегмент промивали у ізотонічному розчині, висушували. Визначення характеру мікробної контамінації дихальних трубок проводили шляхом посіву сегмента на щільне поживне середовище шляхом його прокатування по поверхні поживного середовища. Висіви виконували на кров'яний м'ясо-пептонний агар (МПА) та середовище Сабуро. Чашки з середовищем інкубували при $t\ 37^{\circ}\text{C}$. Через 24 години оцінювали результати посіву, що вирости на сліді від прокатування сегменту, визначали видовий склад мікроорганізмів.

Мікрофлору, що колонізувала внутрішні стінки дихальних трубок, виділяли шляхом висіву на щільні поживні середовища слизу внутрішнього просвіту трубок бактеріологічною петлею.

2.3.2 Методи дослідження біологічних властивостей мікроорганізмів, виділених з клінічного матеріалу

При дослідженні інтубаційних ендотрахеальних та трахеостомічних трубок від хворих виділили 194 штами мікроорганізмів. Виділялись як грампозитивні, так і грамнегативні бактерії різні за таксономічним положенням, а також дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Ідентифікацію мікроорганізмів проводили з урахуванням морфологічних, тінкторіальних, культуральних та біохімічних властивостей згідно Визначника бактерій Берджі (2004).

Біохімічні властивості ентеробактерій та неферментуючих грамнегативних бактерій визначали за допомогою тест-систем ЕНТЕРОтест-24 та НЕФЕРМтест-24 (PLIVA – Lachema a. s. Брно, Чеська республіка). Набір НЕФЕРМтест-24 містить 24 біохімічних тести (індол, аргінін, уреаз, лізин, глюкоза, фруктоза, інозитол, сахароза, фосфатаза, бета-галактозид, бета-глюкоронідаза, N-ацетил-бета-D-глюкозамінідаза, манітол, ксилоза, целобіоза, галактоза, нітрати, нітрити, ескулін, гамма-глутамілтрансфераза, лактоза, мальтоза, трегалоза, цитрат Сімонса), розташованих в 3-рядовій пластинці, які були доповнені тестом для визначення цитохромоксидазної активності – ОКСІтестом. Набір ЕНТЕРОтест-24 містить 24 біохімічних тести (індол, сірководень, лізин, орнітин, уреаз, аргінін, цитрат Сімонса, малонат, фенілаланін, бета-галактозид, інозитол, адонітол, целобіоза, сахароза, трегалоза, манітол, ацетоін, ескулін, сорбітол, рамноза, мелібіоза, рафіноза, дульцит, глюкоза).

Виділені штами стафілококів пересівали на жовтково-сольовий агар Чистовича, інкубували протягом 48 годин при $t\ 37^{\circ}\text{C}$. Колонії, що виростили, оцінювали за культуральними ознаками та наявністю лецитиназної активності.

Для ідентифікації стафілококів визначали 16 показників біохімічної активності (уреаз, аргінін, орнітин, бета-галактозид, бета-глюкоронідаза,

ескулін, нітрати, фосфатаза, галактоза, сахароза, трегалоза, манітол, ксилоза, мальтоза, манноза, лактоза) за допомогою СТАФІтеста-16 (PLIVA – Lachema a. s. Брно, Чеська республіка). Плазмокоагулазну активність виділених стафілококів вивчали за загальноприйнятою методикою з використанням сухої плазми кроля. Зміна консистенції плазми протягом 4 годин інкубації в термостаті свідчила про коагуляцію її білків і вважалася позитивним результатом.

Виділені штами стрептококів тестували на середовищах, що містять 6,5% NaCl та жовч, на здатність змінювати забарвлення молока з метиленовим синім та каталазну активність. Гемолітичну активність стрептококів враховували за появою зони просвітління (руйнування еритроцитів) навколо колонії на середовищі з кров'ю.

Виділені штами грибів ідентифікували за морфологічними, культуральними властивостями, оцінювали здатність утворювати псевдоміцелій на картопляній воді.

У виділених грампозитивних паличок, які в мазках розташовувались під кутом, визначали здатність ферментувати глюкозу та сахарозу, а також гідролізувати сечовину. Проводили пробу Пізу.

2.3.3 Методи визначення чутливості виділених мікроорганізмів до протимікробних засобів

Чутливість виділених культур мікроорганізмів до антибіотиків та антимікотиків проводили диско-дифузійним методом у відповідності до Методичних рекомендацій МВ 9.9.5-143-2007 Державної санітарно-епідеміологічної служби, затверджених наказом № 167 МОЗ України 05.04 2007 р. Кількісне вивчення чутливості виділених штамів до антимікробних препаратів проводили методом серійних послідовних двократних розведень у рідкому поживному середовищі у відповідності п. 3.2. тих же методичних рекомендацій. Відповідне поживне середовище розливали по 2 мл у пробірки. У першу пробірку додавали 2 мл розчину досліджуваного протимікробного препарату і готували послідовні двократні розведення речовини у поживному середовищі.

У всі пробірки вносили завись досліджуваної культури, стандартизованої за шкалою McFarland, в кількості 0,1 мл. Пробірки розміщували в термостаті на 18–24 години. Бактеріостатичну концентрацію визначали за найменшою концентрацією досліджуваної речовини, у присутності якої не спостерігалось помутніння поживного середовища, обумовленого розмноженням досліджуваної культури бактерій.

Мінімальну бактерицидну концентрацію (МБцК) визначали шляхом висіву з кожного розведення препарату після добової інкубації при $t\ 37^{\circ}\text{C}$ на щільне поживне середовище. Вираховували середні показники МБцК для всіх виділених штамів одного біологічного виду мікроорганізмів. Співставлення середніх концентрацій препаратів, необхідних для знищення мікроорганізмів дозволяє визначити порівняльну активність у відношенні тих чи інших мікроорганізмів.

Швидкість знезаражуючого впливу декасану, горостену, 0,05% розчину біглюконату хлоргексидину, 0,1% розчинів бензалконію хлориду і декаметоксину, 3% розчину перекису водню на планктонну форму досліджуваних штамів бактерій визначали суспензійним методом. Для цього у 5 мл антисептичного препарату вносили 1 краплю інокуляту щільністю 10^9 КУО/мл досліджуваної культури бактерій. Через 15хв., 30 хв., 1 год., 2 год., 3 год., 4 год., 6 год., 12 год., 24 год. виконували висів на щільне поживне середовище.

Дослідження потенціюючої дії декаметоксину на активність антибіотиків проводили у рідкому поживному середовищі, до якого додавали розведений у ізотонічному розчині хлориду натрію до суббактеріостатичної концентрації декаметоксин. У подальшому визначали мінімальну бактеріостатичну концентрацію і мінімальну бактерицидну концентрацію антибіотика для досліджуваного штаму бактерій методом двократних серійних розведень у присутності суббактеріостатичної концентрації декаметоксину і паралельно у звичайному середовищі.

Всі досліди супроводжувались відповідними контролями: контролем середовища на стерильність; контролем росту культури в середовищі без

препарату; контролем самого досліджуваного препарату. Досліди проводили у 5-ти повторях з кожною концентрацією.

2.3.4 Методи дослідження процесу утворення бактеріальних біоплівки на поверхні ендотрахеальних трубок

Дослідження процесу формування біоплівки проводили у стаціонарній системі з використанням клінічних штамів мікроорганізмів, виділених з поверхонь використаних у ВРІТ дихальних трубок. З метою утворення біоплівки на поверхні ендотрахеальних трубок стерильні фрагменти останніх довжиною 1 см поміщали у пробірки з 5 мл м'ясо-пептонного бульйону та інокулювали 0,1 мл завису добової культури досліджуваного штаму мікроорганізмів у концентрації 10^9 КУО/мл. Культивування здійснювали при температурі 37°C в часових інтервалах 6 год., 12 год., 24 год., 48 год., 96 год., 7 діб.

По завершенні чергової експозиції інкубації зразки ендотрахеальних трубок відбирали із пробірок, трьохкратно промивали стерильним ізотонічним розчином хлориду натрію, підсушували при кімнатній температурі протягом 30 хв., фіксували у 96% етиловому спирті і забарвлювали 15 хв. у розчині фуксину Пфейфера. Наявність біоплівки на поверхні зразка контролювали мікроскопічно використовуючи об'єктив з 40-кратним збільшенням. Одночасно вилучені з поживного середовища зразки ендотрахеальних трубок після 3-кратного промивання переносили у скляні бюкси з 5 мл стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію і піддавали обробці ультразвуком протягом 8-ми хвилин при частоті 42 Hz в ультразвуковій ванні Codyson CD-7810A. З утвореного внаслідок ультразвукової дезінтеграції біоплівки завису бактерій, готували послідовні десятикратні розведення і висівали на м'ясо-пептонний агар (МПА). Після добової інкубації у термостаті підраховували кількість колоній і перераховували на вміст бактеріальних клітин у одиниці об'єму завису у КУО/мл.

Вплив суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину на процеси плівкоутворення бактеріями досліджували за описаною вище методикою, інкубуючи зразки ендотрахеальних трубок у поживному середовищі, в яке до

інокуляції культури бактерій був внесений антисептик у концентрації у 4 рази меншій, ніж бактеріостатична.

Для визначення впливу антисептиків на бактеріальні плівки, зразки трубок з 4-добовою плівкою занурювали у пробірки з двократно послідовно розведеними антисептиками на 1 добу, після чого переносили у звичайний МПБ, термостатували протягом 24 год. Максимальне розведення антисептика, після обробки яким зразка не спостерігалось росту, вважали МБцК для бактеріальної біоплівки.

Для визначення швидкості позбавлення життєздатності клітин у плівках у робочі розчини антисептиків (декасан, горостен, 0,05% розчин біглюконату хлоргексидину, 3% розчин перекису водню, 0,1% розчин бензалконію хлориду) занурювали попередньо інкубовані протягом 4-х діб в культурі бактерій фрагменти дихальних трубок на 15 хв., 30 хв., 1, 2, 3, 4, 6, 12 та 24 год. По завершенні досліджуваної експозиції знезаражування зразки переносили у м'ясо-пептонний бульйон, інкубували. Ефективною експозицією знезаражування вважали ту з досліджених, по завершенні якої росту бактерій не спостерігалось. Досліди для кожної концентрації кожного антисептика та виду бактерій, а також для кожної експозиції знезаражування виконані у 5-ти повтореннях.

2.3.5 Методи дослідження ефективності протимікробного захисту ендотрахеальних трубок

Протимікробний захист зразків ендотрахеальних трубок проводили шляхом покриття їх поверхні плівкоутворюючими антисептичними композиціями. Для утворення протимікробної плівки на поверхні трубки її сегмент, дотримуючись умов стерильності занурювали в одну з досліджуваних композицій до повного змочування поверхні та внутрішніх каналів. Виріб виймали з рідини і підвішували в стерильному боксі для висушування. Після повного випаровування розчинника (етанолу, води) на поверхні виробу утворювалась тонка антисептична полімерна плівка.

З метою вивчення антимікробних властивостей дихальних трубок,

вкритих різними антисептичними композиціями, сегменти досліджуваних зразків розміщували на чашки Петрі та заливали розплавленим і охолодженим до 40°C МПА, попередньо засіяним зависсю однієї з культур досліджуваних мікроорганізмів, що містила 10^9 КУО на 1 мл зависі. Після повного застигання агару чашки інкубували в термостаті при температурі 37°C протягом 24 годин. Антимікробну ефективність трубок визначали шириною зони затримки росту мікроорганізмів навколо зразка в міліметрах. У всіх повтореннях досліді використані ендотрахеальні трубки одного виробника та одного розміру, тобто однакового діаметру з однаковою товщиною стінки.

Тривалість збереження антимікробних властивостей ендотрахеальних трубок вивчали в умовах відмивання зразків стократним об'ємом стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію з заміною розчину кожних 12 год. Після інкубації сегментів ЕІТ, укритих антисептичними композиціями на основі різних адгезивів, у ізотонічному розчині через 12, 24, 36, 48, 60, 72 та 96 год. визначали величину антимікробну активність катетерів за шириною зони затримки росту мікроорганізмів навколо зразка в міліметрах.

Вивчення стійкості до колонізації контрольних ендотрахеальних трубок та зразків з антисептичним покриттям, виконували на сегментах трубок довжиною 2 см. Зразки звичайних трубок та трубок з укритою антисептичними композиціями поверхнею занурювали у окремі для кожного зразка пробірки з 10 мл МПБ, інокулювали культурою мікроорганізмів (5×10^7 КУО/мл) та інкубували при t 37°C з експозицією 24 та 48 години.

По завершенні експозиції інкубації зразки вилучали з поживного середовища, після 3-кратного промивання переносили у скляні бюкси з 5 мл стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію і піддавали протягом 8-ми хвилин обробці ультразвуком при частоті 42 Hz в ультразвуковій ванні Codynson CD-7810A. З утвореного внаслідок ультразвукової дезінтеграції біоплівки завису бактерій готували послідовні десятикратні розведення і висівали на МПА. Після добової інкубації у термостаті підраховували кількість колоній і перераховували на вміст бактеріальних клітин у одиниці об'єму завису у КУО/мл. Дослідження

проводили зі штамами псевдомонад та акінетобактерій, виділених з поверхні ендотрахеальних трубок, використаних у ВРІТ. Результати враховували після триразового повторення досліджу.

2.3.6 Методики математичного аналізу результатів дослідження

В результаті зведення одержаних результатів досліджень при обчисленні одиниць спостереження отримані абсолютні числа, які виражали описові та кількісні ознаки. Отримані кількісні результати досліджень піддавали статистичній обробці згідно правил рядової і альтернативної варіаційної статистики з обчисленням середньої арифметичної величини, середньоквадратичного відхилення, помилки середньої арифметичної, стандартної помилки частки, оцінкою достовірності розбіжностей за критерієм Ст'юдента, з урахуванням рівня значущості розбіжностей (p) [167]. Для аналізу одержаного матеріалу дані групували за атрибутивними та варіаційними ознаками.

Розрахунки проводилися на персональному комп'ютері за допомогою пакета програм «MS Excel, Statistica 8,0.» [168].

РОЗДІЛ 3

ХАРАКТЕРИСТИКА СПЕКТРУ МІКРООРГАНІЗМІВ, ЩО КОЛОНІЗУЮТЬ ПОВЕРХНЮ ЕНДОТРАХЕАЛЬНИХ ІНТУБАЦІЙНИХ ТРУБОК

Імплантація будь-яких полімерних виробів медичного призначення у органи і системи організму людини, що сполучаються із зовнішнім середовищем, у т.ч. респіраторний тракт, завжди супроводжуються колонізацією цих виробів мікроорганізмами. До складу мікробних асоціацій, що здійснюють колонізацію, можуть входити як представники аутохтонної мікрофлори, так і мікрофлора оточуючого, у т.ч. госпітального, середовища. На склад асоціацій впливають засоби, які використовуються під час лікування, імунний статус особи, ступінь контамінації різними видами мікроорганізмів об'єктів оточуючого середовища та ін. Одержання нових детальних даних про видовий склад та властивості мікроорганізмів, що контамінують вироби, використані під час лікування, є основою розробки та удосконалення схем профілактики та лікування ускладнень, асоційованих з тривалою імплантацією у організм полімерних виробів медичного призначення.

3.1 Видовий склад та біологічні властивості бактерій, виділених з поверхні ЕІТ

Тривале перебування ЕІТ у дихальних шляхах створює передумови для формування у респіраторному тракті мікробіоценозів незвичайних для слизових оболонок дихальних шляхів здорових людей. ЕІТ виконує роль уловлювачу секрету над роздувною манжетою, який є багатим поживним середовищем для мікроорганізмів. Механічне порушення мукоциліарного кліренсу та спонтанної експекторації мокроті сприяє накопиченню великої кількості бактерій у локусі. На склад мікрофлори ротового секрету потужно впливає мікробіоценоз

оточуючого госпітального середовища та відсутність можливості повноцінної гігієни ротової порожнини. Сукупність цих та інших чинників формують кардинально відмінний здоровому мікробіоценоз верхніх відділів респіраторного тракту, склад якого відображений на поверхні ЕІТ.

Нами виконано висіви з поверхні 84 ЕІТ, що не менше 4-х діб знаходились у дихальних шляхах пацієнтів ВРІТ, виділено 194 штами мікроорганізмів. З числа обстежених 36 пацієнтів належали до категорії новонароджених і 48 пацієнтів були з числа дорослих і знаходились на стаціонарному лікуванні у ВРІТ клінік відповідного профілю. Різниця мікробних пейзажів поверхні ЕІТ цих двох категорій хворих була настільки істотною, що робила некоректним суцільне узагальнення. У таблиці 3.1 наведені дані про видовий склад мікрофлори, виділеної з поверхні ЕІТ кожної категорії пацієнтів окремо.

Таблиця 3.1

Характеристика складу мікрофлори, виділеної з поверхні ЕІТ різних категорій хворих ВРІТ

Рід мікроорганізмів	Категорія хворих			
	Дорослі (n=48)		Новонароджені (n=36)	
	Кількість виділених штамів	Відносний показник (%)	Кількість виділених штамів	Відносний показник (%)
Acinetobacter	29	60,4	4	11,1
Stenotrophomonas	4	8,3	-	-
Pseudomonas	8	16,7	-	-
Klebsiella	8	16,7	8	22,2
Enterobacter	8	16,7	9	25
Escherichia	4	8,3	-	-
Enterococcus	14	29,2	14	38,9
Staphylococcus	4	8,3	30	58,3
Kocuria	8	16,7	5	13,9
Corynebacterium	11	22,9	7	19,4
Candida	11	22,9	8	22,2
Всього	109	-	85	-

Аналіз наведених у таблиці 3.1 даних свідчить про те, що у дорослих пацієнтів ВРІТ у переліку мікроорганізмів, які колонізують ЕІТ, домінували неферментуючі грамнегативні бактерії. Серед них безперечними лідерами є представники роду *Acinetobacter*, які були виділені з трубок 60,4% дорослих пацієнтів. При цьому у 52,1% випадків представники означеного роду виділялись у складі мікробних асоціацій, а у 8,3% - у монокультурі. З числа інших неферментуючих паличок у 16,7% випадків у складі мікробних асоціацій поверхню ЕІТ колонізували псевдомонади, у 8,3% - стенотрофомонади. Загалом неферментуючі грамнегативні бактерії виділені з дихальних трубок 85,4% обстежених дорослих пацієнтів ВРІТ.

Досить високою була питома вага у складі мікробних асоціацій представників родини *Enterobacteriaceae*. Зоднаковою частотою (у 16,7% випадків) були виділені мікроорганізми родів *Klebsiella* та *Enterobacter*. Бактерії роду *Escherichia* виділено з поверхні ЕІТ 8,3% дорослих пацієнтів.

З числа грампозитивних бактерій поверхню ЕІТ, використаних у дорослих пацієнтів, найчастіше колонізували представники роду *Enterococcus* (29,2%). Питома вага роду *Staphylococcus* у переліку контамінантів ЕІТ дорослих пацієнтів була невисокою і оцінювалась у 8,3%.

Привертає увагу висока частота (16,7%) присутності у мікробіоценозах поверхні ЕІТ коків роду *Corynebacterium*. На основі філогенетичного та хемотаксономічного аналізу у самотійний рід ця група мікроорганізмів була виділена з числа мікрококів лише у 1995 р. і вважалась непатогенною.

У 22,9% випадках проведених досліджень у складі мікробних асоціацій були виявлені *Corynebacterium non-diphtheriae*, що характеризувались полірезистентністю до антибіотиків, однак не виявляли гемолітичної активності і будь-яких інших ознак агресивності.

З такою ж частотою (22,9%) у складі мікробних асоціацій були присутніми дріжджоподібні гриби роду *Candida*.

Слід зазначити, що у вигляді монокультур з поверхні ЕІТ у окремих випадках нами виділялись виключно представники роду *Acinetobacter*. Чітких

закономірностей у формуванні мікробних асоціацій у складі мікробіоценозу поверхні ЕІТ нам виявити не удалось. Найчастіше мікробні асоціації мали три складових. Досить часто ($\approx 24\%$ випадків) до них входили акінетобактерії та ентерококи. Однак, третя і послідовні складові асоціацій були варіабельними, що не дозволяло зробити будь-яких узагальнень.

Не було відмічено суттєвої різниці у складі мікробних асоціацій, виділених із зовнішньої поверхні ЕІТ, та тих, що виділялись із внутрішнього просвіту виробу. У 35 пацієнтів цієї групи (72,9%) з внутрішньої поверхні були виділені такі самі асоціації бактерій, що колонізували зовнішню їх поверхню. Виділені штами бактерій були ідентичними за усім дослідженим комплексом біологічних характеристик та за профілями антибіотикорезистентності. У решті випадків у складі мікробних асоціацій внутрішньої поверхні трубок було на 1 або 2 види бактерій менше, ніж на зовнішній поверхні тієї ж трубки. При цьому у жодному випадку склад мікробіоценозів внутрішньої поверхні не скорочувався за рахунок неферментуючих грамнегативних бактерій.

У новонароджених пацієнтів ВРІТ серед мікроорганізмів, що колонізували дихальні трубки, домінували представники кокової групи бактерій. Так стафілококи виділялись з поверхні трубок 58,3% обстежених пацієнтів. При цьому у 25% з їх числа трубки були колонізовані двома різними за біологічними властивостями та профілями антибіотикорезистентності видами стафілококів. У решті пацієнтів стафілококи входили до складу мікробних асоціацій, що включали кандиди, ентеробактерії та інші види мікроорганізмів.

Другими за частотою виділення з поверхні ЕІТ новонароджених пацієнтів були представники роду *Enterococcus*, виявлені у 38,9% обстежених. У 6 випадках (16,7%) ентерококи були виділені у монокультури, у решті – в асоціаціях з ентеробактеріями, кандидами та іншими мікроорганізмами.

Ентеробактерії у даної групи обстежених були представлені мікроорганізмами родів *Klebsiella* (у 22,2% пацієнтів) та *Enterobacter* (25%). При цьому представники роду *Enterobacter* у більшості випадків (13,9%) виділялись у вигляді монокультури, у решті випадків – в асоціаціях з стафілококами,

ентерококами, кокуріями, коринебактеріями. Клебсієли виділялись виключно у складі мікробних асоціацій, до яких крім них входили ентерококи, коринебактерії та інші види мікроорганізмів.

Частота виділення неферментуючих грамнегативних паличок у даної групи пацієнтів, у порівнянні з попередньою, була незначною і становила 11,1%. У 2 випадках (5,6%) дихальні трубки були колонізовані монокультурою бактерій роду *Acinetobacter*. І ще удвох випадках акінетобактерії виділені у складі мікробних асоціацій з стафілококами.

Частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* у новонароджених пацієнтів була близькою до такої у дорослих і становила 22,2%.

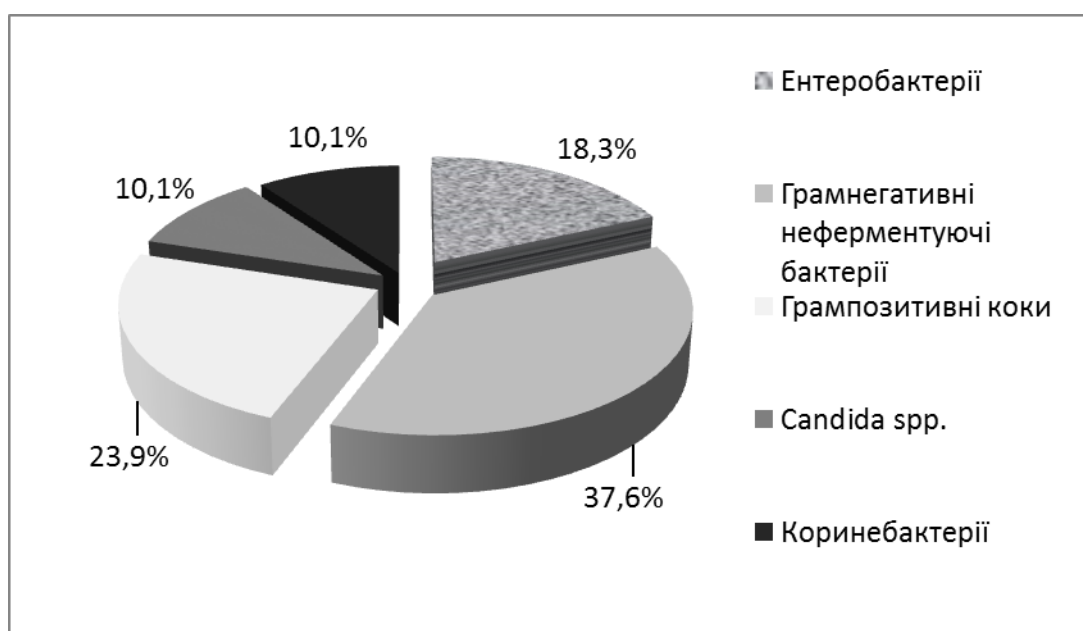


Рис. 3.1. Питома вага окремих груп мікроорганізмів, виділених у дорослих важкохворих.

Питому вагу окремих груп мікроорганізмів у загальній кількості виділених у різних груп хворих штамів бактерій ілюструють рисунки 3.1 та 3.2. Загальна кількість штамів бактерій, виділених з поверхні ЕІТ, використаних у дорослих пацієнтів, становила 109. Питома вага неферментуючих грамнегативних паличок у їх числі дорівнювала 37,6%. Кількість виділених штамів ентеробактерій була приблизно удвічі меншою і складала 18,3%. Загалом грамнегативна флора серед виділених мікроорганізмів у цієї категорії пацієнтів

складала 55,9%. Питома вага грампозитивних коків у загальній кількості виділених штамів становила 23,4%. Майже 13% з них належало до роду *Enterococcus*.

З числа 85 штамів бактерій, виділених з дихальних трубок новонароджених пацієнтів, 57,6% належало до грампозитивних коків. В їх числі: 35,3% – стафілококи; 16,5% – ентерококи; 5,9% кокурії. Грамнегативні бактерії у загальній кількості штамів, виділених у цієї категорії пацієнтів, обіймали частку у 24,7%. При цьому більшість з них (20%) належали до ентеробактерій і лише 4,7% ідентифіковані як неферментуючі палички. Питома вага дріжджоподібних грибів і коринебактерій була близькою до такої у дорослих пацієнтів ВРІТ.

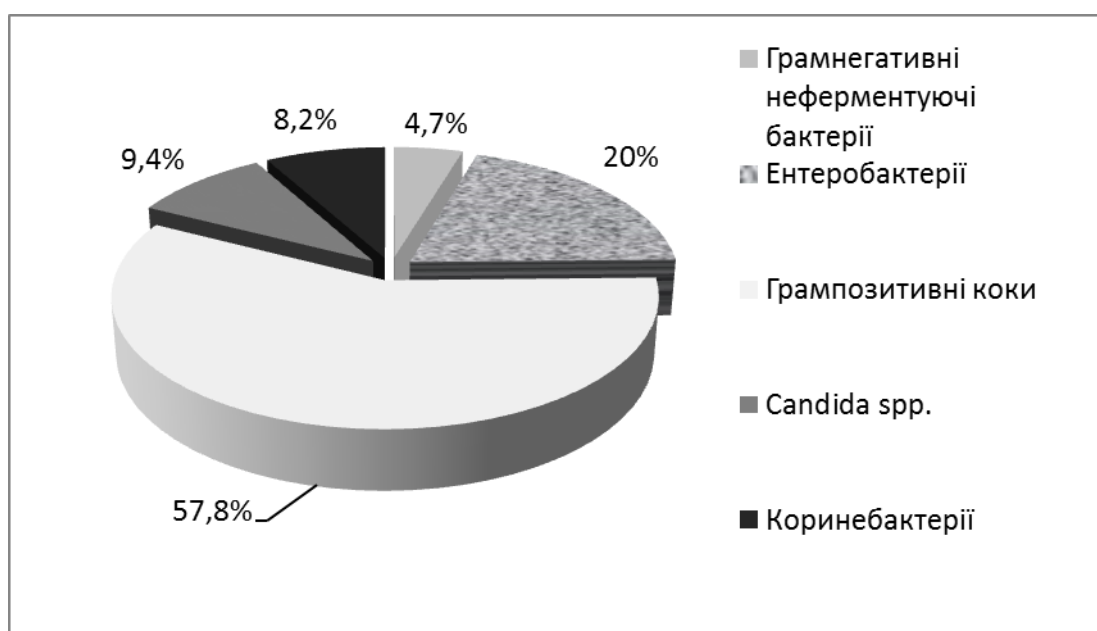


Рис. 3.2. Питома вага окремих груп мікроорганізмів, виділених у важкохворих новонароджених.

Таким чином, за видовим складом мікрофлора, що колонізувала ЕІТ двох різних вікових категорій пацієнтів ВРІТ різних лікувальних закладів, істотно відрізнялась. Для з'ясування причин подібних відмінностей необхідні широкомасштабні різнобічні дослідження, що не входило до переліку наших завдань. На формування мікробіоценозів поверхні дихальних трубок важкохворих можуть впливати чисельні чинники: вікові особливості складу нормофлори, вікові особливості розвитку респіраторного тракту та імунного

статусу, локальні особливості мікроекології лікувальних закладів, відмінності у правилах догляду та ін. Лише констатуємо факт, що у дорослих інтубованих пацієнтів, на відміну від новонароджених, у процесі плівкоутворення на поверхні ЕІТ домінує грамнегативна флора, найчастіше представлена неферментуючими видами бактерій.

Характеристика видового складу та біохімічних властивостей виділених штамів неферментуючих грамнегативних паличок наведено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Характеристика ферментативних властивостей виділених штамів
грамнегативних неферментуючих бактерій

Тест	Вид мікроорганізмів(кількість виділених штамів)			
	A. baumannii (26)	A. lwoffii (7)	S. maltophilia (4)	P. aeruginosa (8)
Оксидаза	-	-	-	+
Каталаза	+	+	+	+
D-целобіоза	+	-	-	-
Глюкоза	+	+/-	-	+
γ-глутамілтранс- фераза	-	-	+	+
D-манніт	-	-	-	+
L ₁ -пролінариламідаса	-	-	+	+
Ліпаза	-	-	+	-
Уреаза	+	+/-	-	+/-
Малонат	+	+	-	+
Фосфатаза	-	-	+	+/-
L-лактат	+	-	-	-
N-ацетіл-бета- глюкозамінідаза	-	-	+	-
D-манноза	+	+/-	+/-	-
L-гістидін	+	+	-	-

Результати тестування деяких штамів за допомогою тест-системи НЕФЕРМтест-24 за певними показниками відрізнялись від типових ідентифікуючих тестів за таблицею, що додається. В таких випадках остаточно видову належність визначали за результатом лабораторного звіту автоматичного аналізатора VITEK 2 System.

За морфологією мікроорганізми, віднесені до роду *Acinetobacter*, були представлені короткими товстими нерухомими паличками, що у первинних висівах нерідко виявляли грамваріабельність. З числа виділених штамів за сукупністю біохімічних ознак 26 було віднесено до виду *A. baumannii*, 7 – до виду *A. lwoffii*. Слід зазначити, що за фенотиповими ознаками диференціювати ці види було складно, адже наріжних видових відмінностей у морфологічних, культуральних і ферментативних властивостях не спостерігалось. Як зазначено в таблиці 3.2, *A. lwoffii* відрізнялись незначно нижчою ферментативною активністю і варіабельністю ряду ознак. Показник вірогідності ідентифікації представників цього біологічного виду за даними лабораторних звітів автоматичного аналізатора не перевищував 94%.

Виділені штами бактерій роду *Stenotrophomonas* належали до біологічного виду *S. maltophilia*, були дрібними рухливими грамнегативними паличками. На відміну від представників інших родів неферментуючих бактерій станотрофомонади синтезували ліпазу і ацетил-бета-глюкозамінідазу, не розщеплювали сечовини.

З 8 штамів *P. aeruginosa* 7 утворювали пігмент, всі штами виявляли гемолітичну активність, були позитивними по тестах на продукцію оксидази та розщеплення D-манніту.

Штами стафілококів, виділені з ЕІТ, виявляли типові морфологічні, тинкторіальні та культуральні властивості. Близько 40% виділених штамів стафілококів не утворювали зони гемолізу на кров'яному м'ясо-пептонному агарі. Виділені штами роду *Kocuria* виявляли грамваріабельність і були ідентифіковані за висновком лабораторного звіту автоматичного аналізатора. Виявлені в складі мікробіоценозів поверхні ЕІТ штами ентерококів мали характерні морфологічні та

тинкторіальні ознаки. Росли на середовищах, що містять 6,5% хлориду натрію та жовч, змінювали забарвлення молока з метиленовим синім. Більшість виділених штамів кокових мікроорганізмів були варіабельними за здатністю ферментувати цукри. Видовий склад та біохімічну активність виділених штамів грампозитивних коків узагальнено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Характеристика ферментативних властивостей виділених штамів
грампозитивних коків

Тест	Вид мікроорганізмів (кількість виділених штамів)						
	<i>S.epidermidis</i> (17)	<i>S.haemolyticus</i> (9)	<i>S.capitis</i> (6)	<i>S.hominis</i> (4)	<i>K.varians</i> (9)	<i>K.kristinae</i> (4)	<i>E.faecalis</i> (28)
Аргінін	+/-	+	+	-	+/-	+	+
Уреаза	+	-	-	+	+	-	-
Бета-галактозίδαза	+/-	-	-	-	-	-	-
Фосфатаза	+/-	-	-	-	-	-	-
Галактоза	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+/-
Сахароза	+/-	+	+	+	-	+	+
Трегалоза	-	+/-	-	+	-	-	+
Манітол	-	+/-	+	-	-	-	+/-
Ксилоза	-	-	-	-	+/-	-	-
Мальтоза	+/-	+	-	+	-	-	+/-
Манноза	+/-	+/-	+	+/-	-	+	+
Лактоза	+/-	+/-	-	-	+/-	-	-

Умовно-патогенні бактерії родини Enterobacteriaceae у складі мікробіоценозів поверхні ЕІТ були представлені мікроорганізмами п'яти біологічних видів родів Enterobacter, Escherichia, Klebsiella. Виділені штами

характеризувались типовими для даних видів морфологічними, тинкторіальними та культуральними властивостями. Окремі особливості ферментативної активності виділених штамів ентеробактерій ілюструє таблиця 3.4.

Таблиця 3.4

Характеристика ферментативних властивостей виділених штамів бактерій
родини Enterobacteriaceae

Тест	Вид мікроорганізмів (Кількість виділених штамів)					
	<i>E. coli</i> (4)	<i>K. pneumoniae</i> <i>spp. pneumoniae</i> (11)	<i>K. pneumoniae</i> <i>spp. ozenae</i> (2)	<i>K. oxytoca</i> (3)	<i>E. cloacae</i> (5)	<i>E. aerogenes</i> (12)
Індол	+	-	-	+	+	-
Сірководень	-	-	-	-	-	-
Лізін	+	+	-	+	-	+
Орнітин	+	-	-	-	+	+
Уреаза	-	+	+	+	-	-
Цитрат	-	+	-	+	+	+
Малонат	-	+	-	+	+	+/-
Бета-галактозидаза	-	-	-	+	+	+
Адонітол	+/-	+/-	-	+	+/-	+/-
Целобіоза	-	+	-	+	+	+/-
Сахароза	+/-	+	+	+	+	+
Трегалоза	+	+	+	+	+	+/-
Глюкоза	+	+	+	+	+	+
Мальтоза	+	+/-	+	+	+	+

Узагальнюючи результати досліджень, наведені у даному підрозділі, можна зазначити, що у колонізації та плівкоутворенні на поверхні ЕІТ пацієнтів

ВРІТ приймають участь умовно-патогенні мікроорганізми, серед яких висока питома вага належить неферментуючим грамнегативним бактеріям, ентеробактеріям, стафілококам та ентерококам. Досить часто у складі мікробіоценозів зустрічаються дріжджоподібні гриби роду *Candida* та недифтерійні коринебактерії.

3.2 Характеристика чутливості виділених мікроорганізмів до антибіотиків та антисептиків

Основні проблеми боротьби з ВАП обумовлені високим рівнем антибіотикорезистентності збудників. Перелік збудників цього важкого ускладнення виділяють у групу «проблемних» бактерій або ESKAPE-мікроорганізмів, нечутливих до переважної більшості вживаних у сучасній медичній практиці протимікробних засобів для системного застосування. Вочевидь, передумовою формування проблемного спектру етіологічно значимих збудників ВАП є особливості мікроекології ВРІТ, де зосереджені знеслаблені важкохворі і застосовується весь спектр антисептиків та антибіотиків резерву, що створює селективні умови для найбільш стійких до хімічних впливів мікроорганізмів.

Наведені вище результати наших досліджень щодо видового складу мікроорганізмів, які колонізують поверхню ЕІТ, співпадають з даними багатьох дослідників етіологічної структури ВАП. Являють значний інтерес результати локального моніторингу антибіотикочутливості мікроорганізмів, виділених у ВРІТ лікувальних закладів м. Вінниці. З метою раціонального зменшення обсягу матеріалу, що підлягає аналізу, у подальших дослідженнях прийняті до уваги лише ті групи бактерій, які виділялись найчастіше.

На рисунку 3.3 наведені результати дослідження чутливості до антибіотиків виділених штамів акінетобактерій. Жоден з 33-х виділених штамів не виявляв чутливості до захищених і незахищених амінопеніцилінів, хлорамфеніколу, тетрацикліну та ципрофлоксацину. До цефалоспорино III

покоління цефтриаксону виявляли чутливість менше 10% виділених штамів, а до цефалоспорино IV покоління цефепіму – лише 6% штамів. До антибіотика карбапенемового ряду меропенему, який є препаратом резерву і часто призначається саме пацієнтам ВРІТ, виявили чутливість близько 18% виділених з поверхні ЕІТ штамів акінетобактерій. З числа β -лактамних антибіотиків задовільну ефективність виявляв лише захищений препарат III покоління цефалоспоринів цефоперазон/сульбактам, чутливими до якого виявились 81,8% виділених штамів акінетобактерій.

Чутливість до респіраторного фторхінолону моксіфлоксацину виявляло 18,2% штамів. Відносно високою була чутливість до рифампіцину (48,5%) та препарату аміноглікозидної групи амікацину (57,6%).

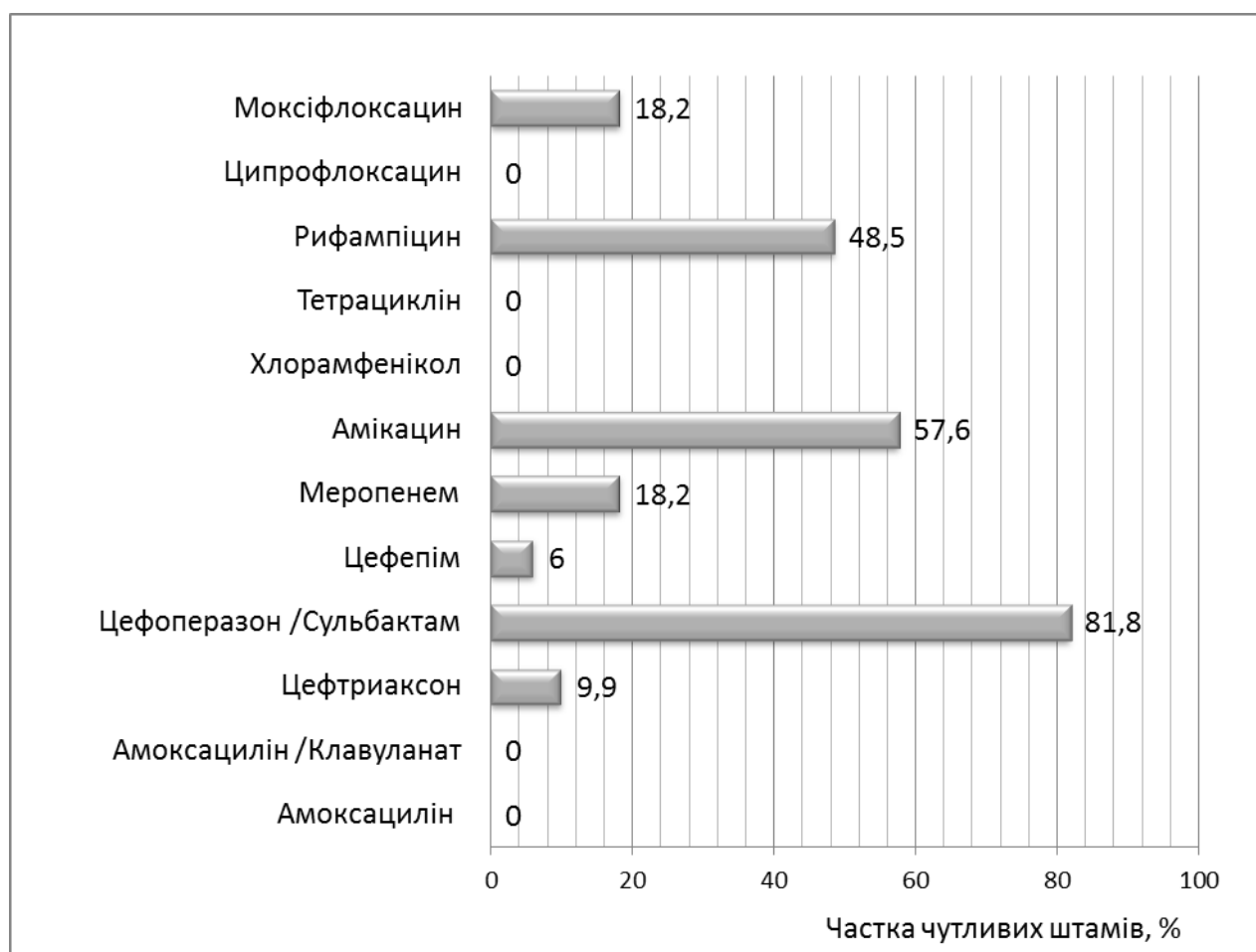


Рис.3.3. Чутливість до антибіотиків виділених штамів мікроорганізмів роду *Acinetobacter*.

Надзвичайно високим рівнем антибіотикорезистентності характеризувались інші виділені представники неферментуючих грамнегативних бактерій. Так, з числа виділених 4-х штамів неферментуючих паличок *Stenotrophomonas maltophilia* 2 виявились резистентними до усіх досліджених протимікробних препаратів. Один штам був чутливим до цефоперазон/сульбактаму та амікацину і один – лише до амікацину. Шість з восьми виділених штамів псевдомонад виявляли чутливість до захищених цефалоспоринів III покоління, аміноглікозидів та моксіфлоксацину, при цьому не виявляли чутливості до інших фторхінолонів. Два з них, крім того виявились чутливим до меропенему. Два штами псевдомонад не виявляли чутливості до жодного із узятих у дослідження антибіотиків.

У порівнянні з неферментуючими паличками виділені мікроорганізми родини Enterobacteriaceae виявляли дещо вищий рівень чутливості до антибіотиків. Тим не менше рівень резистентності до більшості антибіотиків і у цієї групи бактерій був досить високим. На рисунку 3.4 представлена порівняльна характеристика чутливості до антибіотиків бактерій родів *Klebsiella* та *Enterobacter*. Як показує діаграма, представники обох родів характеризувались високим рівнем резистентності до оксациліну, фторхінолонів і рифампіцину. На відміну від неферментуючих бактерій, високим виявився рівень чутливості до захищеного клавулановою кислотою амоксациліну, що свідчить про здатність продукувати β-лактамази значною кількістю виділених штамів ентеробактерій. Значно вищим, у порівнянні з неферментуючими паличками, був рівень чутливості ентеробактерій до меропенему.

Представники роду *Enterobacter* виявляли в цілому вищий рівень резистентності до антибіотиків, у порівнянні з клебсієлами. Так до цефтриаксону були чутливими більше половини виділених штамів клебсієл, тоді як з групи виділених штамів бактерій роду *Enterobacter* чутливість до цього антибіотика виявляли лише 5,9%. Аналогічні істотні відмінності спостерігали в чутливості до цефепіму, амікацину, тетрацикліну та інших антибіотиків. Найвищий рівень чутливості ентеробактерії виявили у відношенні захищеного сульбактамом

цефоперазону та меропенему.

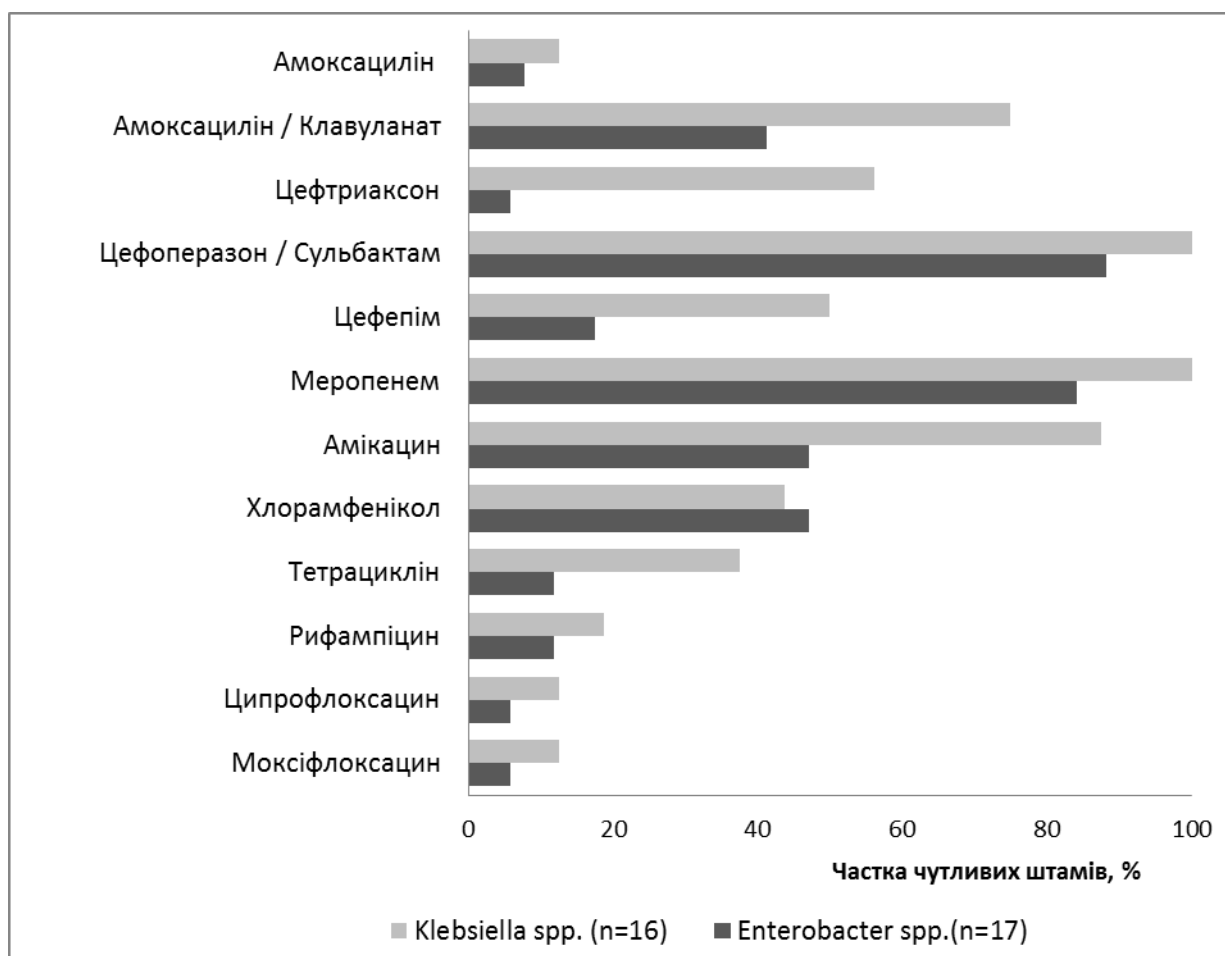


Рис.3.4. Чутливість до антибіотиків виділених штамів мікроорганізмів родів *Klebsiella* та *Enterobacter*.

З числа грампозитивних коків чутливість до антибіотиків узагальнено для представників родів *Staphylococcus* та *Enterococcus*, які виділялись найчастіше. Результати узагальнення ілюструє рисунок 3.5.

Як свідчать наведені на рисунку 3.5 дані, найвищий рівень чутливості (100%) стафілококи і ентерококи виявляли щодо нового препарату з ряду похідних оксазолідинону лінезоліду. Усі штами ентерококів виявились чутливими до глікопептидного антибіотика ванкоміцину. Чутливість стафілококів до цього препарату була значно нижчою (61,7%). Відносно високим виявився рівень чутливості кокових мікроорганізмів до рифампіцину, який для ентерококів сягав 92,9%, а для стафілококів становив 64,7%.

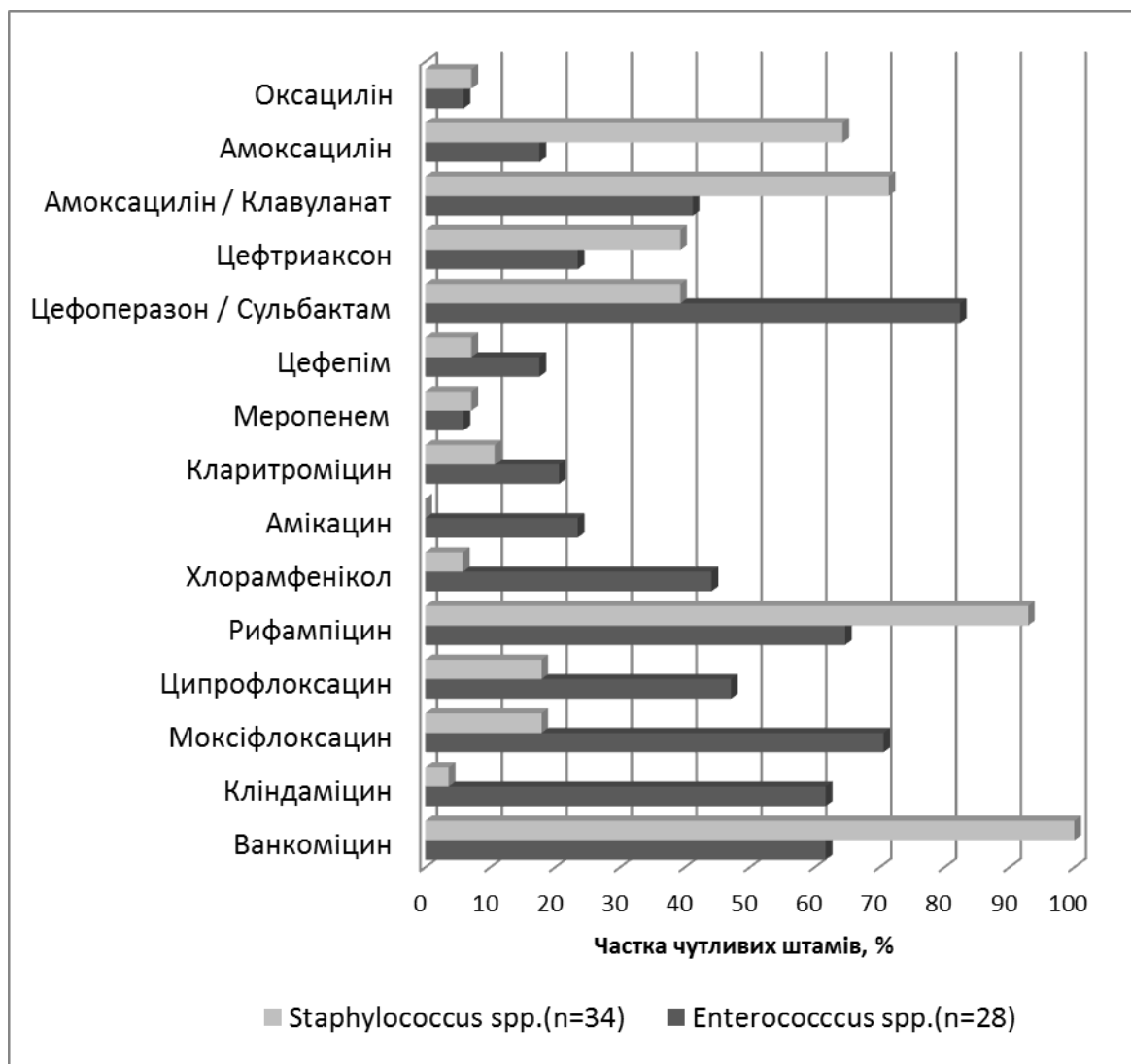


Рис.3.5. Чутливість до антибіотиків виділених штамів грампозитивних коків.

Аналіз чутливості цієї групи мікроорганізмів до β -лактамних антибіотиків показав однаково високий рівень резистентності стафілококів і ентерококів до напівсинтетичного пеніциліназостабільного оксаціліну, цефалоспоринів III і IV поколінь і меропенему. У відношенні амоксациліну і його захищеного клавулановою кислотою варіанту ентерококи виявились більш чутливими, ніж стафілококи. До захищеного цефоперазону, навпаки, чутливими були 82,4% штамів стафілококів і лише 39,3% штамів ентерококів.

Низьку чутливість ентерококи виявляли до антибіотиків макролідного ряду, кліндаміцину, фторхінолонів. Чутливість стафілококів до цих препаратів була дещо вищою, однак також далеко не абсолютною.

З числа інших грампозитивних бактерій з поверхні ЕІТ нами було виділено 18 штамів коринебактерій, яких було ідентифіковано як таких, що відносяться до видів *C. pseudodiphtheriticum* (12) та *C. xerosis* (6). Вважати їх етіологічно значимими для узятих у наше дослідження пацієнтів підстав не було. Однак відомо, що представники даних видів здатні приймати участь у розвитку гнійно-запальних процесів різної локалізації, у т.ч. респіраторного тракту. Враховуючи походження виділених штамів викликає зацікавленість оцінка їх чутливості до антибіотиків, проілюстрована рисунком 3.6.

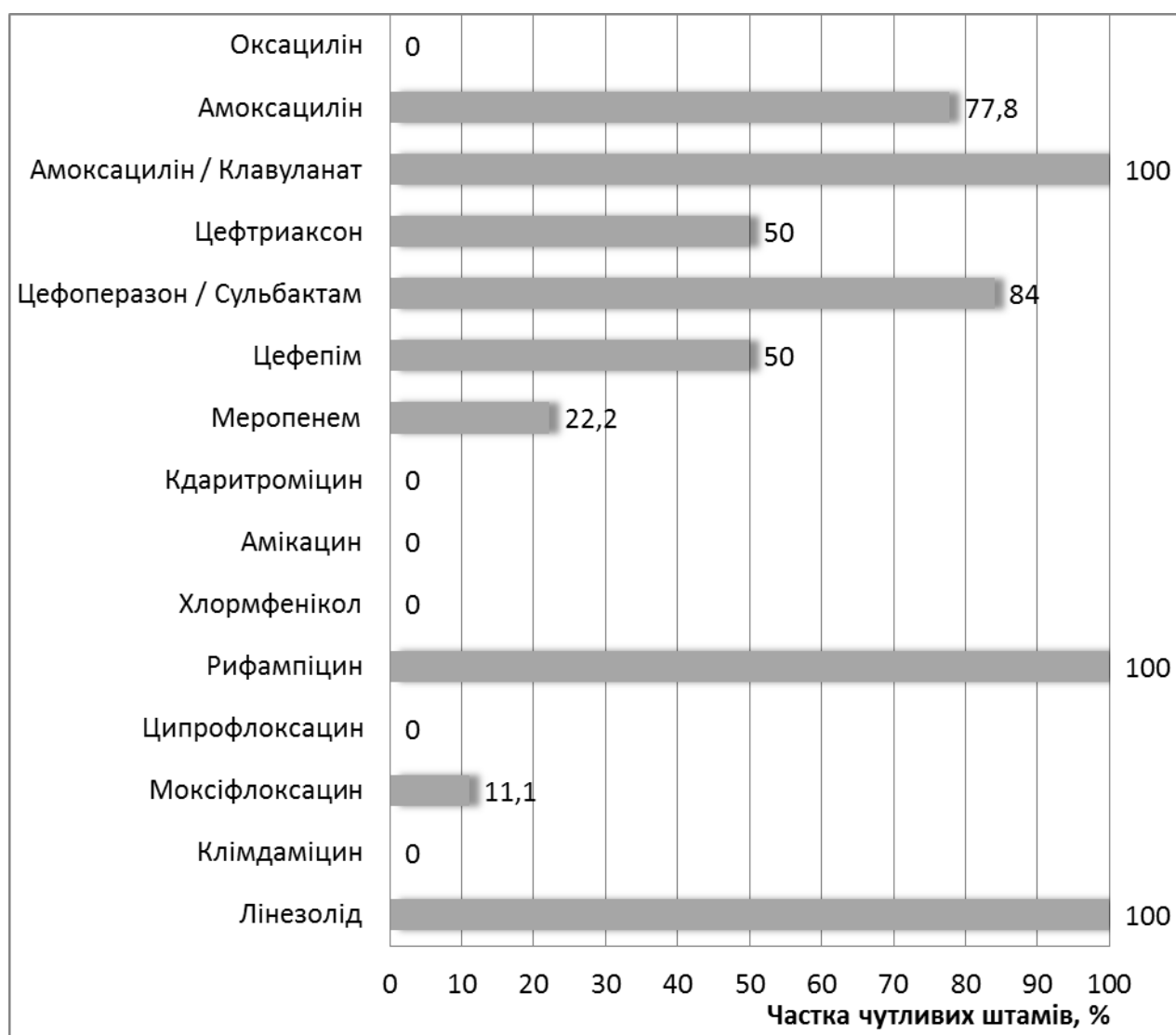


Рис. 3.6. Чутливість до антибіотиків виділених штамів коринебактерій.

Як зазначено на діаграмі, усі виділені штами коринебактерій слід вважати полірезистентними до антибіотиків, адже вони не виявляли чутливості, як

мінімум, до 6 препаратів. Значна кількість штамів була резистентною до 10 антибіотиків, а окремі – до 12. Усі виділені штами коринебактерій були чутливими до лінезоліду, рифампіцину та захищеного амоксациліну.

Намагаючись оцінити рівень антибіотикорезистентності виділених з поверхні ЕІТ штамів бактерій в цілому, можна лише визнати його дуже високим. При цьому діапазон міжвидових і міжштамових відмінностей у чутливості до препаратів для системного застосування надзвичайно широкий. Ці чинники не дозволяють вважати жоден препарат універсальним і пояснюють відсутність ефективних схем лікування ВАП.

Антисептичні протимікробні засоби відрізняються від протибактеріальних препаратів для системного застосування досить жорстким механізмом дії і неможливістю швидкої адаптації мікроорганізмів до їх впливу. Нами проведено кількісне дослідження рівня чутливості виділених штамів мікроорганізмів до семи широко вживаних у медичній практиці антисептиків. Одержані результати узагальнені в таблиці 3.6.

Акінетобактерії до антисептиків не виявили стійкості. Найвищу чутливість цей рід бактерій демонстрував до октенідину та четвертинних амонієвих сполук, МБЦК яких для акінетобактерій не перевищувала 25 мкг/мл. Незначно нижчим виявився рівень чутливості до похідних бігуанідину (біглюконату хлоргексидину, полігексаметиленгуанідину). Істотно вищими були показники МБЦК для акінетобактерій у перекису водню ($268,7 \pm 31,7$ мкг/мл), та ще вищими у повідон-йоду ($3762,6 \pm 156,4$ мкг/мл).

Стенотрофомонади, які характеризувались найвищим рівнем антибіотикорезистентності, виявили до усіх семи досліджених антисептиків високий рівень чутливості. Щодо похідних бігуанідину, октенідину та перекису водню цей рід бактерій виявляв вищий рівень чутливості, ніж акінетобактерії.

Псевдомонади мали найвищий рівень витривалості до дії більшості антисептиків у порівнянні не лише з іншими неферментуючими бактеріями, але й усіма прийнятими до уваги у даному дослідженні виділеними видами мікроорганізмів. Лише до дії перекису водню та полігексаметиленгуанідину

псевдомонади були більш чутливими, ніж акінетобактерії. Для знищення псевдомонад необхідною була у тричі вища концентрація найпотужнішого антисептика октенідину, ніж для знищення акінетобактерій.

Таблиця 3.6

Характеристика чутливості виділених мікроорганізмів до антисептиків

Антисептичний засіб	Вид мікроорганізмів (кількість штамів)						
	Acinetobacter spp. (33)	P. aeruginosa (8)	S. maltophilia (4)	Enterobacter spp. (17)	Klebsiella spp. (16)	Staphylococcus spp. (34)	Enterococcus spp. (2)
	Мінімальна бактерицидна концентрація ($M \pm m$) (мкг /мл)						
Декаметоксин	22,1± 2,2	116,5± 10,2	28,6± 6,2	29,5± 5,4	42,4± 7,2	5,5± 1,5	2,8± 0,4
Бензалконію хлорид	24,6± 3,2	262,8± 32,6	29,4± 6,6	28,8± 5,2	44,2± 7,7	12,8± 2,2	10,8± 1,2
Хлор-гексидину біглюконат	40,7± 5,2	72,2± 8,6	34,2± 6,8	24,2± 4,6	43,8± 6,8	12,6± 1,8	27,6± 1,8
Полігексаметилenguанідин	56,4± 7,8	42,4± 7,5	32,5± 6,4	18,8± 1,8	35,4± 5,7	10,7± 1,4	8,6± 1,2
Октенідин	15,8± 0,8	46,9± 8,2	11,4± 2,3	8,8± 1,8	12,8± 1,8	4,2± 0,8	2,2± 0,4
Повідон-йод	3762,6± 156,4	12584± 388,4	3685,6± 168,5	6278± 222,2	6868,2± 232,4	1839± 112,7	9382± 377,4
Перекис водню	268,7± 31,7	88,4± 10,2	118,6± 16,2	68,9± 4,6	66,4± 6,8	64,2± 6,2	88,7± 7,9

Практичне значення має те, що середня МБцК повідон-йоду для псевдомонад сягає понад 12000 мкг/мл. Концентрація препарату у антисептиках, які випускаються фармпромисловістю, становить 100 000 мкг/мл і є цілком достатньою для знищення будь-яких бактерій, у т.ч. псевдомонад. Практичні лікарі, з метою уникнення подразнюючого впливу препарату на тканини

організму людини, іноді вдаються до розведення робочого розчину у десять разів. При цьому концентрація повідон-йоду у розчині стає меншою ніж середня МБЦК для псевдомонад.

Серед досліджених ентеробактерій представники роду *Enterobacter* виявляли вищий рівень чутливості до більшості антисептиків, у порівнянні з мікроорганізмами роду *Klebsiella*. Однак, орієнтуючись на концентрації антисептиків, що мають практичне використання, ці відмінності не можна вважати значимими. В цілому на підставі результатів наших досліджень представників родини ентеробактерій можна визнати більш чутливими до дії досліджених антисептиків, ніж акінетобактерії та псевдомонади.

Грампозитивні коки виявили значно вищий рівень чутливості до дії антисептиків, у порівнянні з усім спектром досліджених грамнегативних паличок. При цьому показники МБЦК трьох антисептиків (хлоргексидину, повідон-йоду, перекису водню) для стафілококів були найнижчими, у порівнянні з усіма іншими прийнятими до уваги видами бактерій. До чотирьох антисептиків (декаметоксину, бензалконію хлориду, полігексаметиленгуанідину, октенідину) незначно вищу чутливість виявляли ентерококи. Останні, поступаючись ступенем витривалості до більшості антисептиків грамнегативним бактеріям і стафілококам, характеризувались високою резистентністю до дії повідон-йоду, середня МБЦК якого для ентерококів наближалась до 10000 мкг/мл.

Оцінюючи активність окремих антисептиків у відношенні більшості досліджених видів мікроорганізмів, найбільш активним слід визнати октенідин, середня МБЦК якого для ентерококів була найменшою серед усіх визначених ($2,2 \pm 0,4$ мкг/мл), а найбільш резистентний до антисептиків вид *P. aeruginosa* гинув в присутності менш ніж 50 мкг/мл препарату. Високим рівнем активності щодо усього спектру виділених бактерій характеризувались четвертинні амонієві сполуки. При цьому серед двох досліджених препаратів цього ряду значні переваги мав декаметоксин, МБЦК якого для псевдомонаді стафілококів у 2,3 рази, а для ентерококів – у 3,9 разів, виявились меншими, ніж бензалконію хлориду. Стосовно інших досліджених видів бактерій показники майже не відрізнялись.

Відомо, що антисептики з числа четвертинних амонієвих сполук, до яких належить декаметоксин, здатні підвищувати чутливість мікроорганізмів до антибіотиків. Становила значний практичний інтерес визначити: чи здатен вплинути декаметоксин на чутливість до антибіотиків полірезистентних штамів бактерій, виділених з поверхонь ЕІТ. Нами проведено кількісне визначення чутливості виділених штамів неферментуючих грамнегативних бактерій і ентерококів до цефалоспоринової III покоління цефтриаксону і препарату карбапенемового ряду іміпенему без і в присутності суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину. В таблиці 3.7 наведені одержані показники для цефтриаксону.

Таблиця 3.7

Чутливість мікроорганізмів до цефтриаксону
в присутності суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину

Показник	Вид бактерій			
	A.baumannii	P.aeruginosa	S.maltophilia	E. faecalis
Кількість досліджених штамів	16	8	4	15
Використана суббактеріостатична концентрація декаметоксину (мкг/мл)	4	20	8	1
МБЦК (мкг/мл) антибіотика ($M \pm m$)	1324,5 $\pm$ 136,7	1627,3 $\pm$ 202,4	1297,6 $\pm$ 121,1	1571,6 $\pm$ 164,2
МБЦК (мкг/мл) антибіотика ($M \pm m$) в присутності декаметоксину	165,1 $\pm$ 25,6	387, $\pm$ 11,2	162,2 $\pm$ 19,7	48,8 $\pm$ 7,6
Кратність зменшення МБЦК антибіотика в присутності декаметоксину	8	4	8	32
P	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Аналіз наведених в таблиці 3.7 даних свідчить про наявність вираженого потенціуючого впливу декаметоксину на активність цефтриаксону. Мінімальна бактерицидна концентрація антибіотика для резистентних до цефтриаксону штамів неферментуючих бактерій в присутності суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину зменшувалась у 4–8 разів. У резистентних до препарату штамів ентерококів чутливість зростала у 32 рази.

Аналогічний ефект спостережено для антибіотика іміпенему, що належить до препаратів резерву і часто використовується у ВРІТ (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Чутливість мікроорганізмів до іміпенему
в присутності суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину

Показник	Вид бактерій			
	A.baumannii	P.aeruginosa	S.maltophilia	E. faecalis
Кількість досліджених штамів	16	6	4	15
Використана суббактеріостатична концентрація декаметоксину (мкг/мл)	4	20	8	1
МБЦК (мкг/мл) антибіотика ($M \pm m$)	289,6 $\pm$ 24,3	642,7 $\pm$ 38,7	667,9 $\pm$ 40,5	927,4 $\pm$ 107,3
МБЦК (мкг/мл) антибіотика ($M \pm m$) в присутності декаметоксину	47,4 $\pm$ 6,2	157,5 $\pm$ 22,4	165,2 $\pm$ 9,7	369,7 $\pm$ 29,6
Кратність зменшення МБЦК антибіотика в присутності декаметоксину	6	4	4	2.5
P	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Чутливість акінетобактерій до іміпенему в присутності декаметоксину зростала у 6 разів, псевдомонад і стенотрофомонад – у 4 рази, а ентерококів – у 2,5 рази. В зв'язку з встановленим ефектом можна припустити, що в клінічних умовах при системному застосуванні іміпенему чи цефтріаксону місцеве застосування на слизових оболонках препаратів декаметоксину може мати підвищену ефективність, обумовлену взаємно потенціюючим на протимікробну активність впливом антибіотика і антисептика.

Заключення до розділу 3

У колонізації та плівкоутворенні на поверхні ЕІТ важкохворих пацієнтів ВРІТ різних лікувальних закладів та різних вікових груп приймають участь умовно-патогенні мікроорганізми, серед яких висока питома вага належить неферментуючим грамнегативним бактеріям, ентеробактеріям, стафілококам та ентерококам. У дорослих пацієнтів ВРІТ у мікробному спектрі біоплівки на поверхні ЕІТ переважає грамнегативна флора, представлена переважно неферментуючими паличками, серед яких лідерами за частотою виділення є представники роду *Acinetobacter*.

У пацієнтів відділень реанімації новонароджених з поверхні тривало використаних ЕІТ найчастіше виділялись грампозитивні коки, представлені переважно представниками родів *Staphylococcus* та *Enterococcus*.

Представники родини *Enterobacteriaceae* у обох вікових групах виділялись з наближеною частотою, що становить 16,7–25% випадків. Мікроорганізми цієї родини найчастіше представлені бактеріями родів *Klebsiella* та *Enterobacter*.

Виділені штами мікроорганізмів характеризувались полірезистентністю до антибіотиків. Серед виділених штамів стафілококів 94,1% були резистентними до оксациліну і антибіотика резерву меропенему. Більшості виділених штамів ентеробактерій була притаманна продукція β -лактамаз. Неферментуючі грамнегативні палички у деяких випадках характеризувались тотальною резистентністю до усіх використаних у дослідженні антибіотиків. Протимікробного засобу системного застосування, до якого були б чутливими

усі виділені з поверхонь ЕІТ штами мікроорганізмів, не виявлено.

Штами мікроорганізмів, що колонізують ЕІТ, зберігають чутливість до використовуваних у сучасній медичній практиці антисептиків. Рівень чутливості представників окремих родів бактерій до різних антисептиків коливається у широкому діапазоні. Найвищий рівень чутливості до більшості досліджених антисептиків виявляли стафілококи. Найбільш витривалими до дії антисептиків виявились *P. aeruginosa*.

Найнижчий рівень активності щодо виділених з поверхонь ЕІТ штамів мікроорганізмів встановлено для повідон-йоду та перекису водню. Перспективними для подальших досліджень виявились октенідін та декаметоксин, які характеризувались високим рівнем протимікробної активності у відношенні виділених штамів мікроорганізмів.

У декаметоксину, крім того, встановлено здатність у суббактеріостатичних концентраціях підвищувати чутливість резистентних до антибіотиків штамів ентерококів і неферментуючих грамнегативних бактерій до цефалоспоринів III покоління і антибіотиків карбапенемового ряду.

Результати досліджень, наведених у даному розділі, були висвітлені у наступних публікаціях:

1. Епідеміологічний моніторинг антибіотикорезистентних штамів стафілококів у госпітальному середовищі / В.П. Ковальчук, В.М. Кондратюк, Н.С. Фоміна, С.В. Бобрук, Ю.Ю. Трофіменко, О.В. Римша // XV з'їзд Укр. наук.-мед. товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного: тези доп. – Харків, 2011. – С.4.

2. Римша О.В. Чутливість мікрофлори, ізольованої в пацієнтів до антибіотиків та антисептиків / О.В. Римша, Ю.Ю. Трофіменко // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2012. -- № 18. – С. 38-41.

3. Трофіменко Ю.Ю. Колонізація ендорахеальних трубок умовно-патогенною мікрофлорою / Ю.Ю. Трофіменко // Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни та туберкульозу : 10-ої наук.-практ. конф. з міжнар. участю

приуроченої до Дня науки, травень 2013р. – Вип. 10. – Львів, 2013. – С.61-63.

4. Анализ чувствительности клинических штаммов Эшерихий, выделенных из организма больных детей, к антибиотикам, антисептикам / Г.К. Палий, А.А. Назарчук, Д.В. Палий, С.А. Назарчук, О.О. Гончар, Б.Н. Береза, Ю.В. Кордон, Н.В. Задерей, Ю.Ю. Трофименко // Педиатр. – 2013. – Т. 4, № 4. – С.23-26.

5. Ковальчук В.П. Чутливість грамнегативних неферментуючих бактерій до антибіотиків та антисептиків / В.П. Ковальчук, В.М. Кондратюк, Ю.Ю. Трофіменко // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського, 1-6 жовт.2013р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 260.

6. Трофіменко Ю.Ю. Чутливість до антибіотиків мікрофлори, що колонізує дихальні трубки тривало інтубованих хворих / Ю.Ю. Трофіменко //36. мат. наук.-практ. конф., 25 квітня 2014 р. : тези доп. – Тернопіль, 2014. – С.109-110.

7. Ковальчук В.П. Посилення протимікробної активності антибіотиків сполуками четвертинного амонію/ В.П. Ковальчук, Ю.Ю. Трофіменко, Н.С. Фоміна, С.В. Бобрук// XV конгрес СФУЛТ, 16-18 жовтня 2014 р. : мат. конгресу. -Чернівці-Київ-Чікаго, 2014. - С 406.

8. Чутливість грамнегативних неферментуючих бактерій та інших збудників ВАП до антибіотиків та антисептиків / Ю.Ю. Трофіменко, І.Г. Палій //Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2014. – № 22. – С.107 – 109.

9. Панчук С.І. Чутливість збудників запальних ускладнень бронхіальної астми до декасану та фурациліну / С.І. Панчук, Ю.Ю. Трофіменко // XIII зїзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського, 1-6 жовт.2013 р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 312.

10. Ковальчук В.П. Чутливість збудників гнійно-септичних ускладнень до антибіотиків та антисептиків / В.П. Ковальчук, Ю.Ю. Трофіменко // Актуальні питання хірургії, наук.-практ. конф. присвячена 75-річчю від Дня народження Заслуженого лікаря України, проф.. Ф.Г.Кулачека, 21черв. 2013. – 2013. – С.84-85.

11. Трофіменко Ю.Ю. Мікробна контамінація уретральних катетерів у хворих відділення інтенсивної терапії / Ю.Ю. Трофіменко // Мат. І наук. конф. молодих вчених з міжнар. участю, 19-20 трав. 2010 р. : тези доп. – Вінниця, 2010. – С.175.

РОЗДІЛ 4

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ БАКТЕРІАЛЬНИХ БІОПЛІВОК НА ПОВЕРХНІ ЕІТ

В більшості природних біоценозів бактерії існують у вигляді організованих консорціумів, якими є поверхневі біоплівки, і у складі яких їх функціонування істотно відрізняється від такого у планктонній формі. Утворення біоплівки надає мікробній популяції нових, на наш час мало вивчених властивостей, які у планктонної форми не виявляються. Дослідження закономірностей утворення плівок бактеріями знаходиться на етапі становлення: не розроблено універсальних методів дослідження, не існує бази системних знань щодо закономірностей розвитку цих процесів. Формування подібної бази можливе шляхом узагальнення результатів чисельних масштабних досліджень. Більшість існуючих у сьогоденні даних ґрунтується на результатах дослідження утворення бактеріальних біоплівок на поверхні лабораторних покривельних скелець в штучному поживному середовищі [92]. Властивості поверхні цих об'єктів відрізняються від властивостей полімерних виробів медичного призначення, у т.ч. ЕІТ.

Враховуючи роль ЕІТ у розвитку вентилятор-асоційованих пневмоній, викликає значний інтерес вивчення швидкості бактеріального плівкоутворення на поверхні серійних зразків цих виробів. Оскільки результатами вивчення видового складу біоплівок на поверхні використаних у клінічних умовах ЕІТ доведено провідну роль у їх колонізації неферментуючими грамнегативними бактеріями, тому у дослідженнях наша увага була зосереджена на вивченні закономірностей плівкоутворення саме цими бактеріями.

4.1 Швидкість утворення біоплівок на поверхні ЕІТ мікроорганізмами родів *Acinetobacter* та *Pseudomonas*

Для визначення оптимальних термінів дослідження чутливості бактерій, що інкорпоровані в структуру біоплівки, до впливу антисептичних та

дезінфікуючих засобів необхідно мати уяву про динаміку та строки формування цих консорціумів мікроорганізмів. Адже, правомірно припустити, що найвищий рівень толерантності до хімічних впливів притаманний бактеріям, які входять до складу зрілого формування, що завершило структуризацію, однак не почало руйнуватись.

Біомасу бактеріальної плівки на поверхні фрагментів ЕІТ стандартного розміру оцінювали по кількості колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів у зависі після ультразвукової дезінтеграції біоплівки при інкубації із поступовим збільшенням експозиції. В сучасній світовій практиці бактерії *Pseudomonas aeruginosa* є одним з основних об'єктів вивчення закономірностей функціонування бактерій у складі біоплівки. Тому, у першу чергу нами вивчено швидкість плівкоутворення на поверхні ЕІТ в штучних умовах клінічними штамами цього виду бактерій, виділеними з поверхонь використаних ЕІТ. Одержані результати ілюструє рисунок 4.1.

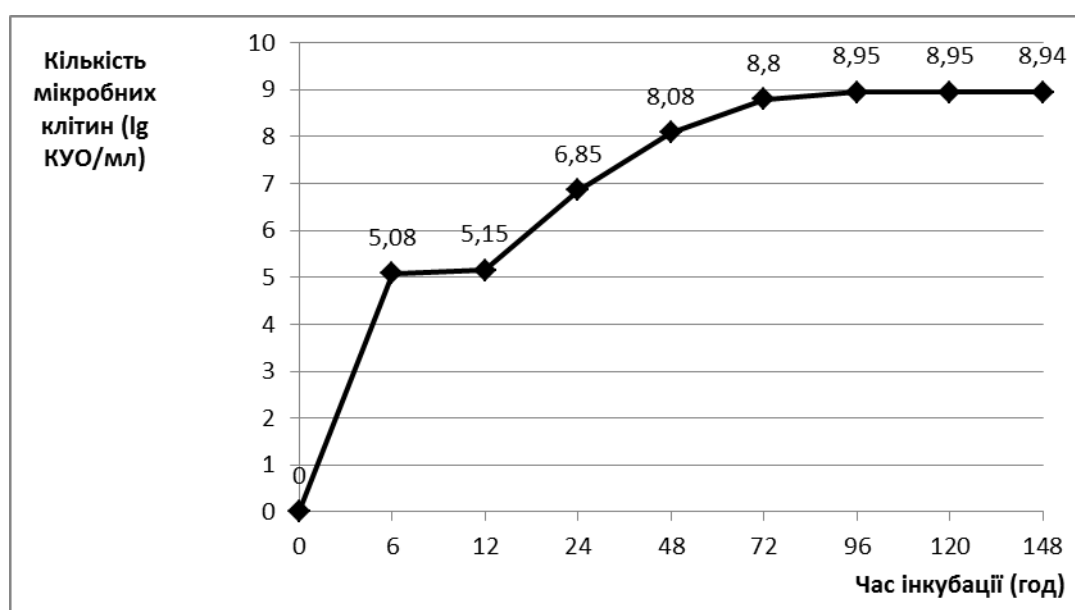


Рис. 4.1. Динаміка утворення біоплівки *P. aeruginosa* на фрагменті ЕІТ.

Аналіз зображення на рисунку 4.1 показує, що плівкоутворення на досліджених об'єктах на першій добі культивування у псевдомонад відбувається уповільнено: у періоді часу від 6 до 12 год. інкубації збільшення кількості життєздатних клітин у плівці становило від lg 5,08 КУО/мл до lg 5,15 КУО/мл,

що у відносних показниках складає близько 16%. Лише під кінець першої доби культивування відмічено зростання кількості мікроорганізмів більш ніж у 50 разів (lg 6,85 КУО/мл).

Протягом другої доби культивування кількість клітин на поверхні зразків ЕІТ зросла більш ніж на один порядок і досягла у культурах *P. aeruginosa* lg 8,08 КУО/мл. Кількість бактеріальних клітин у біоплівці досягла максимуму на кінець четвертої доби культивування, протягом п'ятої доби експерименту залишалась незмінною. Вочевидь, процес структуризації бактеріальних біоплівок на поверхні зразків ЕІТ у цей період часу був завершеним. На шостій добі спостережень було відмічено невелике падіння кількості життєздатних клітин у бактеріальній біоплівці.

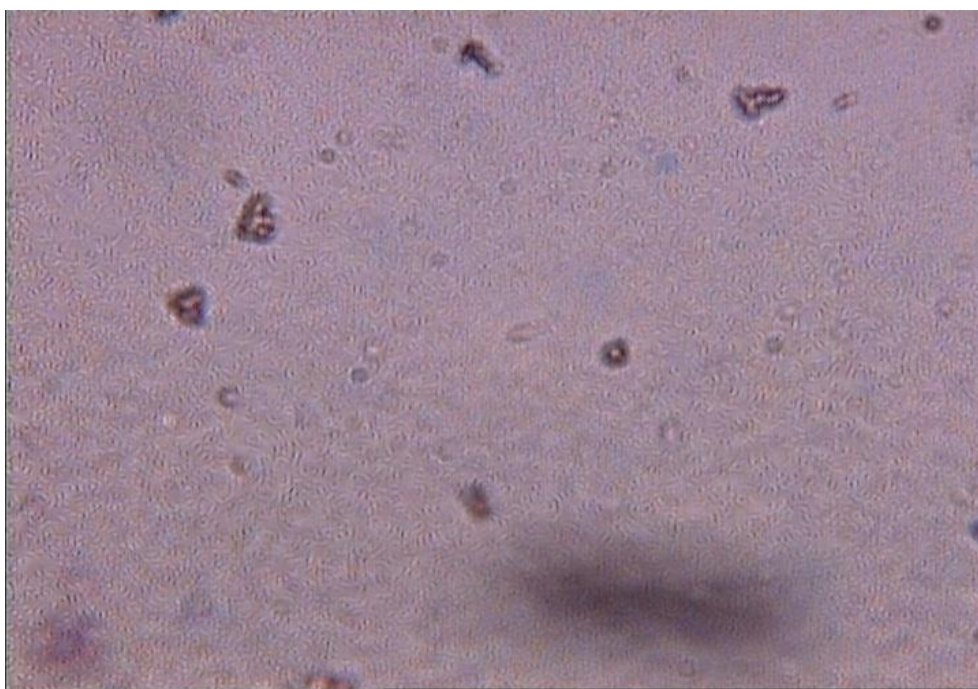


Рис. 4.2. Поверхня ЕІТ після 6-ти годинного культивування у середовищі, засіяному *P. aeruginosa*. Забарвлення фуксином, $\times 400$.

В дослідженнях процесів плівко утворення псевдомонадами на початкових стадіях автори відмічають утворення розеток та тяжів, що виникають у наслідок об'єднання бактеріальних клітин кінцями, які в подальшому

зливаються у багатоклітинні конгломерати, з їх наступним перетворенням у островки біоплівки більшого розміру [92]. В процесі мікроскопічного контролю утворення біоплівок на поверхні ЕІТ у наших дослідженнях не ставилось за мету описати первинні елементи. Ми починали спостереження після 6-ти годин інкубації і відмічали на поверхні ЕІТ появу поодиноких бактеріальних конгломератів, що являли собою утворення неправильної форми (рис. 4.2). Схожа картина з невеликим збільшенням кількості конгломератів спостерігалась на 12-ту годину спостережень. Вочевидь процес утворення бактеріальної плівки розпочинався одночасно в багатьох центрах.

Щільність укриття бактеріальними конгломератами *P. aeruginosa* поверхні ЕІТ по завершенні першої доби культивування відображає рисунок 4.3. Дрібними, неправильної форми утвореннями була рясно вкрита майже уся поверхня, охоплена полем зору. При цьому більшість елементів відособлені, в окремих локусах спостерігається злиття елементів з тенденцією до утворення ущільнених островків, яких на цьому етапі плівкоутворення обмаль.

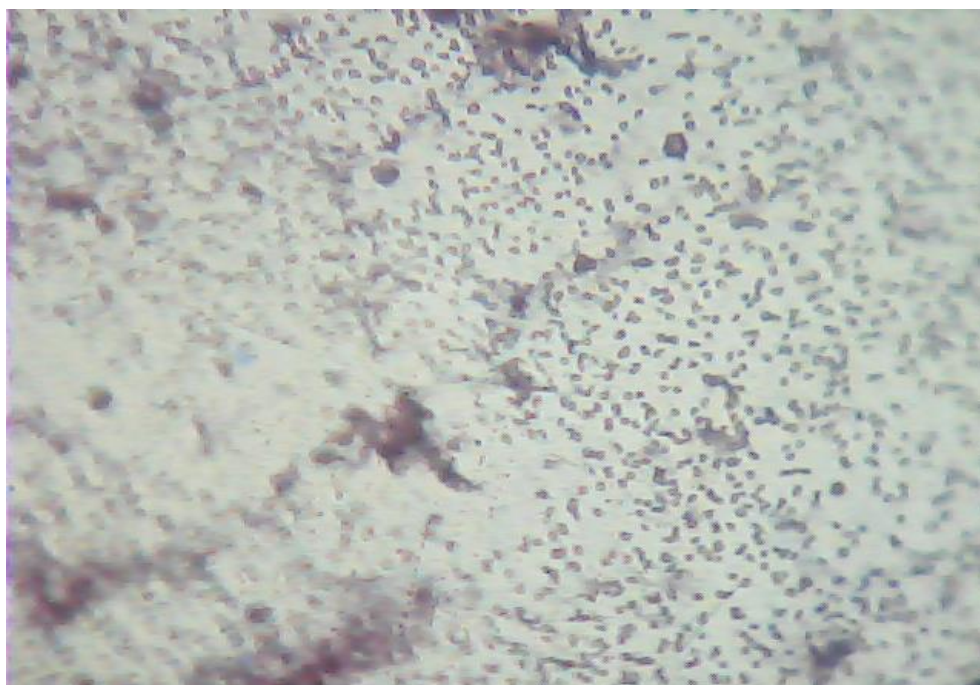


Рис. 4.3. Поверхня ЕІТ після 24-х годинного культивування у середовищі, засіяному *P. aeruginosa*. Забарвлення фуксином, $\times 400$.

Після 48-ми годинного культивування (рис. 4.4) характер поверхні досліджуваного зразка ЕІТ виглядав інакше. Дрібних відокремлених елементів на поверхні залишалось мало. Проте, значна площа поверхні була укрита утвореннями різної неправильної форми з нерівним краєм, згрупованими по два, три або чотири елементи, схильними до злиття у ще більші островки.

Оптична щільність цих утворень, у порівнянні із конгломератами, спостереженими на першу добу, дозволяє зробити припущення, що при формуванні елементів їх збільшення відбувається у трьох вимірах.

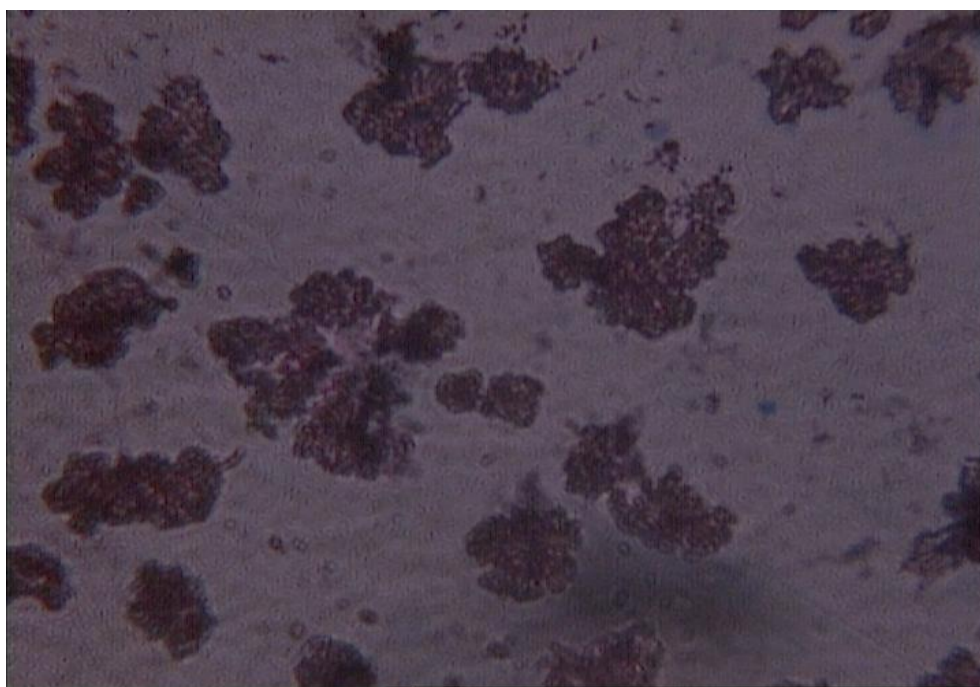


Рис. 4.4. Поверхня ЕІТ після 48-ми годинного культивування у середовищі, засіяному *P. aeruginosa*. Забарвлення фуксином, $\times 400$.

По завершенні третьої доби культивування (рис. 4.5) спостерігали збільшення кількості описаних вище островків, зменшення простору між окремими фрагментами біоплівки. Від окремих островків до поряд розташованих витягувались тяжі, спрямовані на замкнення сітчастої структури біоплівки.

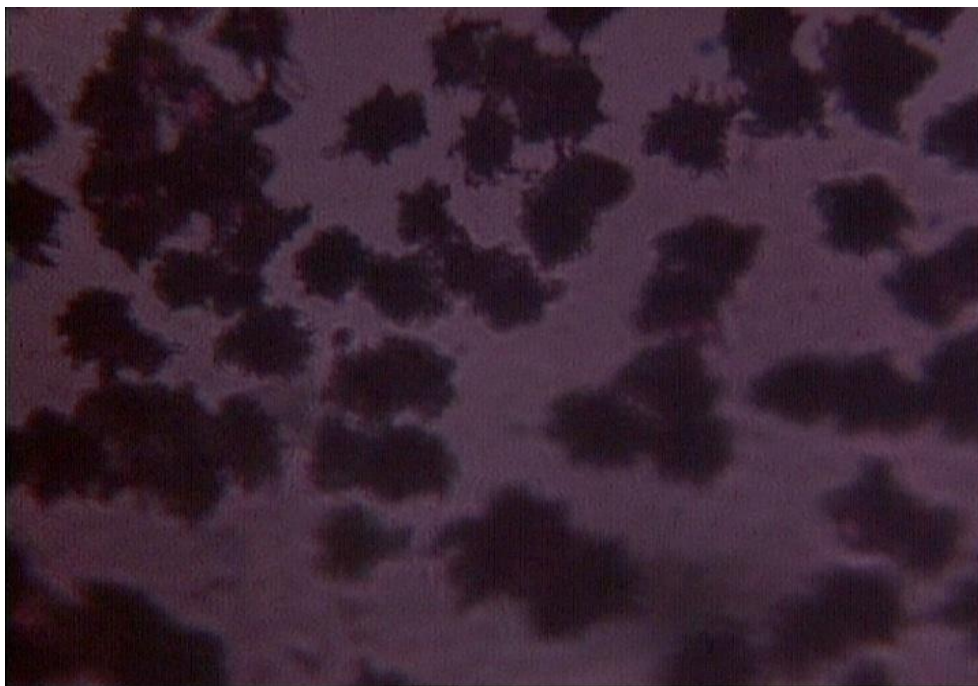


Рис. 4.5. Поверхня ЕІТ після 72-х годинного культивування у середовищі, засіяному *P. aeruginosa*. Забарвлення фуксином, $\times 400$.

На четверту добу культивування (рис. 4.6) завершення формування біоплівки візуально характеризувалось утворенням суцільно пов'язаної сітчастої системи без окремо розташованих елементів, що являла собою практично однорідну структуру. Біоплівку не можна було назвати моношаром, оскільки у її структурі залишались вільні зони. Неоднорідність забарвлення спостережених структур дозволяє припустити наявність у структурі плівки площин, заповнених бактеріальним екзополісахаридним матриксом.

На п'яту добу культивування особливих змін у структурі біоплівки *P. aeruginosa* на поверхні ЕІТ не відмічено. Оскільки основним завданням цієї серії досліджень було визначення термінів завершення структуризації біоплівки на поверхні ЕІТ, то подальших візуальних спостережень процесів її деградації нами не проводилось.

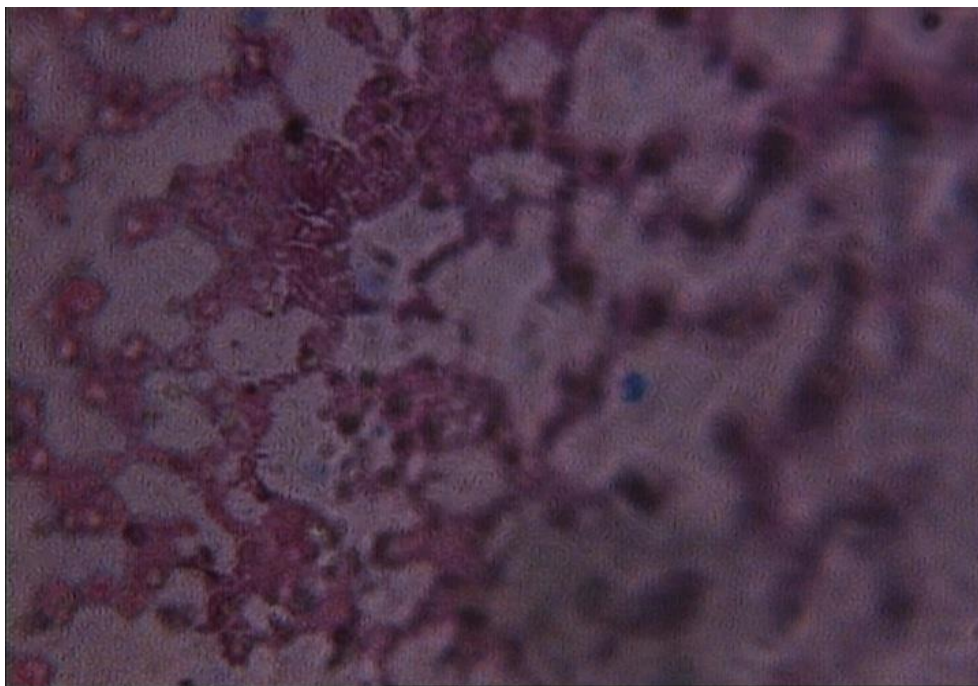


Рис. 4.6. Поверхня ЕІТ після 96-ти годинного культивування у середовищі, засіяному *P. aeruginosa*. Забарвлення фуксином, $\times 400$.

Динаміку утворення біоплівки на поверхні ЕІТ мікроорганізмами виду *A. baumannii* відображено графіком на рисунку 4.7. В цілому результатами кількісного дослідження утворення біоплівки акінетобактеріями у динаміці встановлено, що закономірності формування біоплівки у цього виду бактерій повторюють такі для псевдомонад. Абсолютні показники кількості життєздатних бактерій у біоплівці для клінічних штамів акінетобактерій дещо нижчі від подібних для псевдомонад. Так, якщо кількість псевдомонад дезінтегрованих із плівок, що утворились на поверхні ЕІТ за 12 годин інкубації, сягала $\lg 5,15$ КУО/мл, то у акінетобактерій цей показник був на один порядок нижчим і становив $\lg 4,15$ КУО/мл.

Подібна тенденція зберігалась протягом другої доби культивування. У зависі, одержаному шляхом ультразвукової дезінтеграції біоплівки із зразка ЕІТ після 48-ми годинного культивування, кількість акінетобактерій становила $\lg 7,08$ КУО/мл. На той самий час кількість псевдомонад у зависі сягала $\lg 8,08$ КУО/мл.

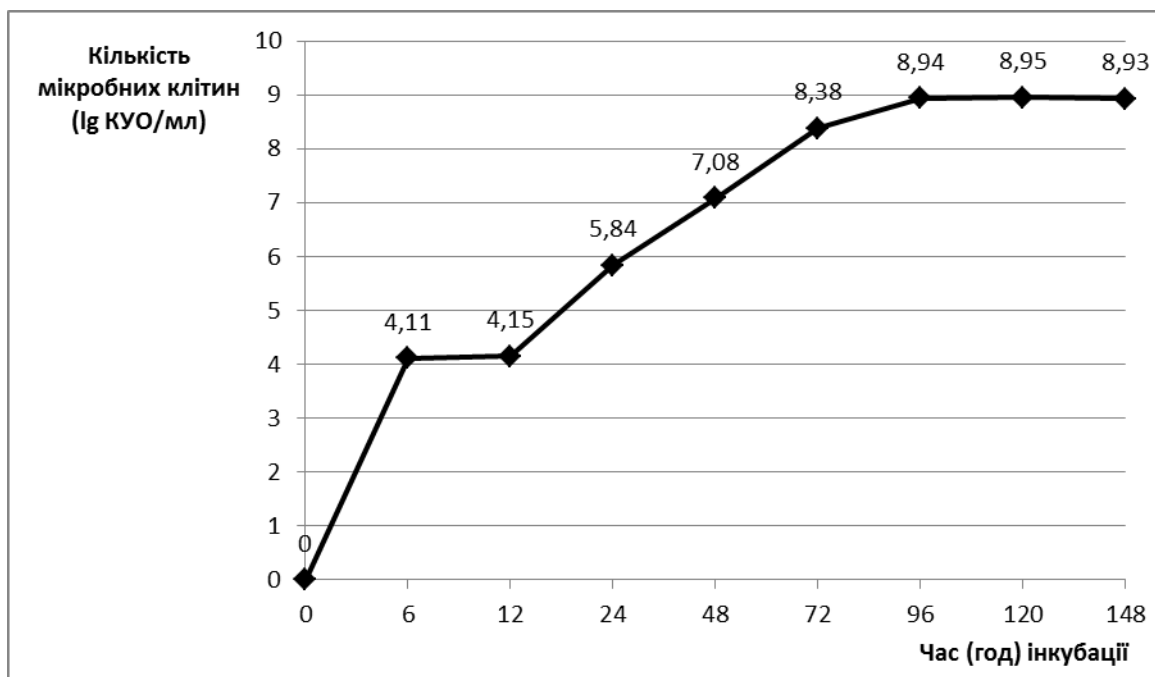


Рис. 4.7. Динаміка утворення біоплівки *A. baumannii* на фрагменті ЕІТ.

Однак, по збігу четвертої доби культивування показники кількості мікроорганізмів в плівці у акінетобактерій і псевдомонад вирівнювались і сягали рівня lg 8,94 – 8,95 КУО/мл. Як і у псевдомонад, показник у акінетобактерій протягом п'ятої доби спостережень залишався сталим, а на шостій добі спостерігалось незначне його зниження.

Слід звернути увагу на те, що динаміка формування біоплівок неферментуючими грамнегативними бактеріями нагадує криві росту планктонних форм мікробних популяцій з повторенням фаз розвитку періодичної культури бактерій: лаг-фази, експоненціальної, стаціонарної, відмирання. Лише часові масштаби реалізації цих фаз є значно більшими, ніж у планктонній культурі. У псевдомонад найбільше зростання кількості клітин у біоплівці спостерігається протягом другої доби перебування зразка ЕІТ у культурі бактерій. У акінетобактерій період найбільшого накопичення клітин у біоплівці припадає на третю добу.

Мікроскопічний контроль процесу плівкоутворення на поверхні ЕІТ мікроорганізмами виду *A. baumannii* не дозволив встановити відмінностей у морфології первинних бактеріальних конгломератів, що дозволили б візуально диференціювати плівки цього виду бактерій і псевдомонад. В цілому

мікроскопічна картина поверхні досліджуваних зразків ЕІТ, колонізованих акінетобактеріями, була ідентична зразкам, колонізованим псевдомонадами та відображена вище на малюнках.

Узагальнюючи наведені вище результати досліджень слід зазначити, що процес плівко утворення неферментуючими грамнегативними бактеріями на поверхні ЕІТ розпочинається з чисельних центрів, характеризується певною стадійністю і завершується утворенням сітчастої структури, що вкриває всю поверхню зразка. Формування біоплівки завершується на кінець четвертої доби перебування зразка ЕІТ у культурі неферментуючих бактерій. Для дослідження чутливості неферментуючих мікроорганізмів у складі біоплівки до впливу антисептичних та дезінфікуючих засобів слід використовувати зразки ЕІТ, що знаходились у культурі бактерій протягом 4 – 5 діб.

4.2 Чутливість біоплівок грам негативних неферментуючих бактерій до дії антисептиків

Формування мікроорганізмами біоплівок вважається способом їх виживання в умовах постійного впливу згубних чинників навколишнього середовища. Високий рівень резистентності до хімічних впливів мікроорганізмів, інкорпорованих у біоплівку, обумовив пропозиції фахівців щодо обов'язкового визначення дії протимікробних лікарських засобів саме на біоплівки. Більшість подібних досліджень проводиться стосовно антибіотиків. Нашим завданням було порівняльне дослідження чутливості до дії антисептичних засобів планктонних і плівкових варіантів одних і тих самих штамів псевдомонад і акінетобактерій, виділених з поверхонь використаних ЕІТ.

У виборі антисептиків для проведення досліджень керувались результатами визначення активності щодо планктонних форм мікроорганізмів, наведеними вище, доступністю препаратів практичній охороні здоров'я, а також міркуваннями фармакоескономії. Октенідін, який за нашими даними мав найвищий рівень протимікробної активності, у вигляді готової лікарської форми Октенісепт зареєстрований в Україні. Однак, доступність його практичній

медицині обмежена. Препарат нерегулярно імпортується і далеко не завжди наявний в асортименті аптечних закладів, вартість флакона 50 мл у роздрібній мережі перевищує 120 грн., що не дозволяє його використовувати щоденно. Тому препарат нами був виключений з подальших досліджень.

Бензалконію хлорид і полігексаметиленгуанідину рідких антисептичних лікарських формах в нашій аптечній мережі відсутні і тому у наших подальших дослідженнях також не використовувались.

Вітчизняний антисептик декаметоксину, що виявляв високий рівень активності щодо досліджених штамів мікроорганізмів, відомий високою лікувальною ефективністю. Готові рідкі антисептичні лікарські препарати Декасан та Горостен випускаються вітчизняною фармпромисловістю без обмежень. Роздрібна вартість флакону декасану 400 мл майже у тричі нижча ніж ціна флакону Октенісепту.

Біглюконат хлоргексидину у формі 0,05% водного розчину випускається вітчизняними виробниками, давно відомий практичним лікарям, постійно наявний у аптечній мережі, доступний за вартістю. Тим самим чином можна охарактеризувати препарати на основі повідон-йоду та перекису водню.

Результати порівняльного дослідження активності названих антисептичних засобів у відношенні планктонних і плівкових форм штамів псевдомонад і акінетобактерій наведені у таблиці 4.1.

Аналізуючи наведені у таблиці 4.1 дані слід зазначити, що у відношенні усіх досліджених антисептиків у складі біоплівки псевдомонади значно більш резистентні, ніж у планктонній формі. Так, у декаметоксину і біглюконату хлоргексидину МБцК для біоплівки у 3,1 разів більша, ніж для планктонної форми. Найменша різниця МБцК для планктонної і плівкової форм псевдомонад (у 2,4 рази) була у повідон-йоду. Найбільше у складі біоплівок зростала резистентність псевдомонад до дії перекису водню. Середня кратність зростання МБцК для плівкової форми, у порівнянні з планктонною сягала 12,8 разів. Середня МБцК перекису водню для планктонної форми становила $995,6 \pm 72,7$ мкг/мл (близько 0,1% розчину). У складі біоплівок окремі штами псевдомонад

не гинули під впливом 1,5% розчину цього антисептика.

Таблиця 4.1

Порівняльна чутливість планктонної і плівкової форми *P. aeruginosa*
до антисептиків

Антисептик	МБцК (мкг/мл), ($M \pm m$)		Кратність зростання МБцК	p
	планктон	біоплівка		
Декаметоксин	116,5 $\pm$ 10,2	357,7 $\pm$ 30,6	3,1	<0,01
Біглюконат хлоргексидину	72,2 $\pm$ 8,6	224,9 $\pm$ 21,7	3,1	<0,01
Повідон-йод	12584,2 $\pm$ 388,4	30107,6 $\pm$ 725,5	2,4	<0,01
Перекис водню	995,6 $\pm$ 72,7	12764,5 $\pm$ 420,4	12,8	<0,01

Схожі закономірності зростання мінімальних бактерицидних доз антисептиків спостерігали для плівкових форм акінетобактерій, у порівнянні з їх планктонною формою (табл. 4.2). Слід зазначити, що кратність зростання МБцК усіх досліджених антисептиків для плівкових форм акінетобактерій, у порівнянні з такою ж у псевдомонад, вища. Так МБцК біглюконату хлоргексидину для плівкової форми акінетобактері, у порівнянні з планктонною формою, більша у 3,2 рази, для повідон-йоду – у 3,4 рази, для декаметоксину – у 3,6 разів. Як і для псевдомонад, найбільшою була кратність зростання МБцК для плівкових форм акінетобактерій у перекису водню (у 14,2 рази).

Узагальнюючи вище викладене можна зробити висновок, що у складі біоплівок рівень захищеності від дії антисептиків у акінетобактерій вищий, ніж у псевдомонад, і у практичних умовах знищення акінетобактерій, інкорпорованих у біоплівку, може стати більш складним завданням, ніж знищення такої ж форми паличок синьо-зеленого гною. Однак, у практичних умовах часто використовуються розчини антисептиків у концентраціях значно вищих мінімальних бактерицидних. Порівняльну оцінку ефективності дії робочих розчинів антисептиків на плівкові і планктонні форми псевдомонад та

акінетобактерій нами дано за величиною експозиції їх бактерицидного впливу на обидві форми мікроорганізмів.

Таблиця 4.2

Порівняльна чутливість планктонної і плівкової форми *A. baumannii*
до антисептиків

Антисептик	МБцК (мкг/мл), ($M \pm m$)		Кратність зростання МБцК	p
	планктон	біоплівка		
Декаметоксин	22,1 $\pm$ 2,2	80,5 $\pm$ 9,2	3,6	<0,01
Біглюконат хлоргексидину	40,7 $\pm$ 5,2	132,3 $\pm$ 9,8	3,2	<0,01
Повідон-йод	3762,6 $\pm$ 156,4	12670,8 $\pm$ 421,9	3,4	<0,01
Перекис водню	268,7 $\pm$ 31,7	3820,1 $\pm$ 137,3	14,2	<0,01

У дослідженнях використані серійні зразки антисептиків горостен і декасан на основі декаметоксину. Оскільки концентрації основної діючої речовини у цих лікарських формах низькі, і близькі до МБцК для псевдомонад і акінетобактерій, то у дослідженні, крім того, використали 0,1% водний розчин декаметоксину, рекомендований інструкцією по застосуванню антисептика для знезаражування виробів медичного призначення. Визначені ефективні знезаражуючі експозиції для серійних зразків 3% розчину перекису водню та 0,05% розчину біглюконату хлоргексидину. Робочий 10% розчин повідон-йоду у дослідженнях не використовували, оскільки препарат не застосовується для знезаражування медобладнання і у такій концентрації є небезпечним для слизових оболонок. Результати дослідження ефективності дії робочих розчинів антисептиків на різні форми псевдомонад ілюструє малюнок 4.8.

У декасані суспензія планктонної форми паличок синьо-зеленого гною повністю гинула при експозиції дії 180 хвилин. Зразки ЕІТ, вкриті біоплівкою цього виду мікроорганізмів, не знезаражувались навіть після добового перебування у цьому антисептику. Вочевидь, концентрація декаметоксину у декасані (0,02%) недостатня для знищення плівкової форми псевдомонад.

Горостен містить незначно більшу концентрацію декаметоксину (0,025%) і 15% етилового спирту. При цьому антисептик виявився ефективним у знезаражування зразків ЕІТ, вкритих біоплівкою псевдомонад, при експозиції занурення їх у антисептик на 2 год.. Варто звернути увагу на те, що загибель планктонної форми паличок синьо-зеленого гною під дією горостену відбувається при експозиції у чотири рази меншій.

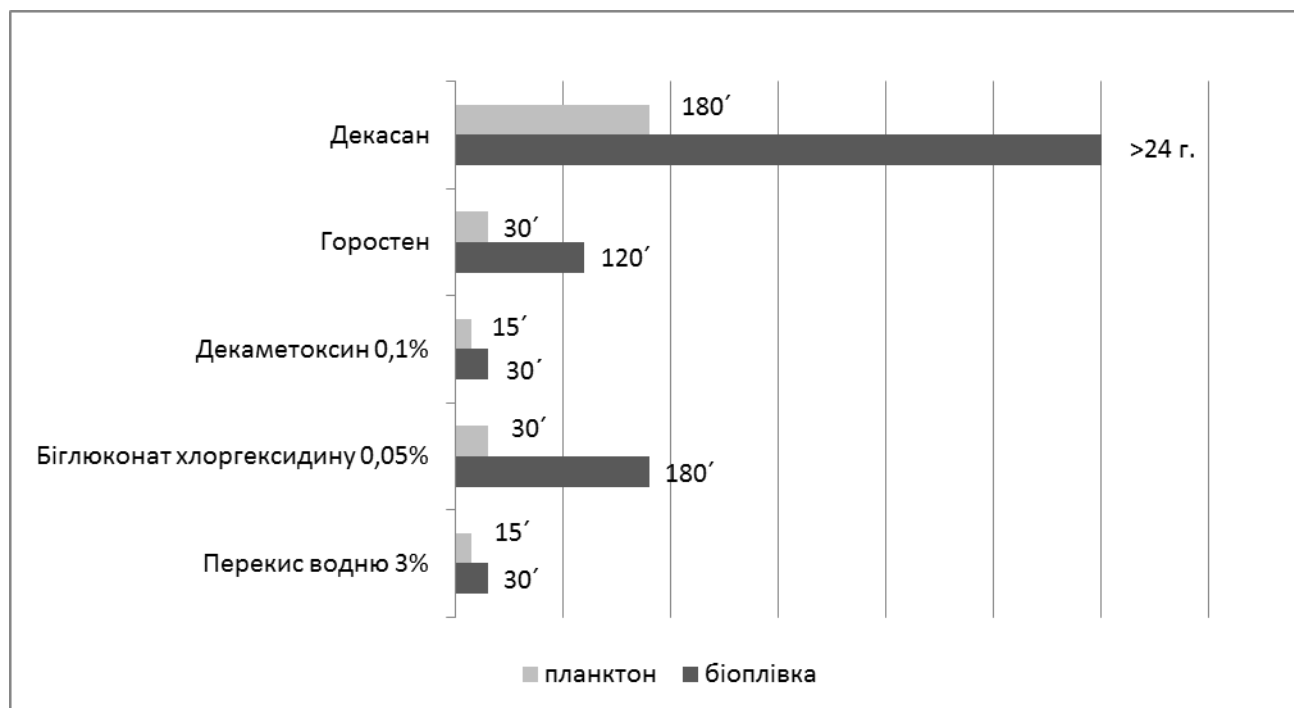


Рис. 4.8. Порівняльна характеристика ефективності впливу робочих розчинів антисептиків на планктонну та плівкову форми *P. aeruginosa*.

Загибель плівкової форми псевдомонад у 0,05% розчині хлоргексидину спостерігали при експозиції дії у три години. Тобто, цей антисептик у боротьбі з плівковою формою псевдомонад дещо поступається горостену. Найефективнішими за згубним впливом на плівкову форму паличок синьо-зеленого гною виявились 3% розчин перекису водню та 0,1% розчин декаметоксину, ефективна експозиція дії яких не перевищувала 30 хвилин.

Акінетобактерії за показником ефективної експозиції дії, як і за показниками МБцК, виявились до антисептиків більш чутливими, ніж псевдомонади. Результати дослідження представлені на рисунку 4.9.

Аналіз зображення на малюнку 4.9 свідчить про те, що плівкова форма цього виду мікроорганізмів теж нечутлива до дії декасану. Хоча для знищення планктонної форми акінетобактерій достатньо на 60 хвилин меншої експозиції, ніж для знищення псевдомонад. Знезараження зразків ЕІТ, вкритих плівковою формою акінетобактерії, горостеном досягається при експозиції дії 150 хв., на 30 хв. більшій, ніж необхідна для знищення плівки псевдомонад.

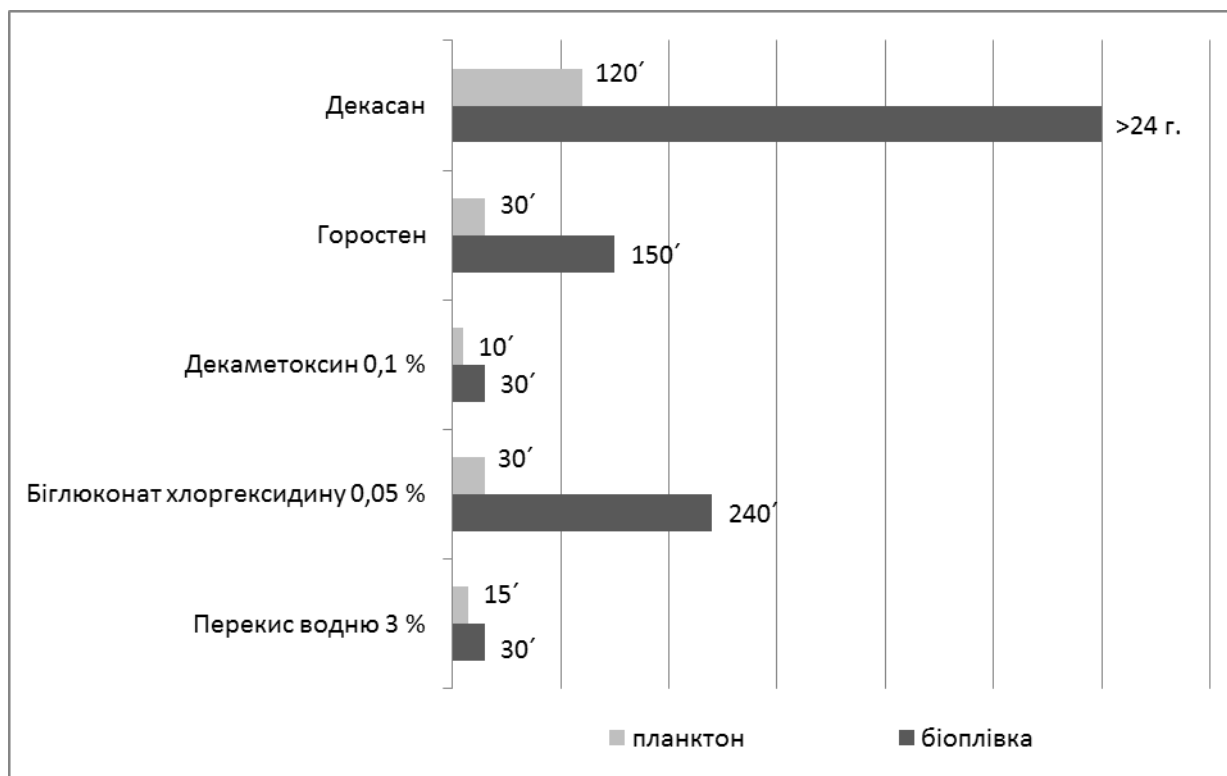


Рис. 4.9. Порівняльна характеристика ефективності впливу робочих розчинів антисептиків на планктонну та плівкову форми *A. baumannii*.

Менш чутливими, у порівнянні з псевдомонадами, виявились інкорпоровані у біоплівку акінетобактерії до розчину хлоргексидину. Ефективна експозиція дії цього антисептика дорівнювала 240 хвилинам. Для знищення планктонної форми акінетобактерій було достатньо 30-хвилинної експозиції дії хлоргексидину.

Розчин перекису водню та 0,1% розчин декаметоксину згубно впливали на плівкову форму акінетобактерій при тій же експозиції дії, що і на біоплівку псевдомонад (30 хв.).

Наведені вище дані свідчать про високий рівень витривалості неферментуючих бактерій у складі біоплівки, що вкривають поверхню ЕІТ в процесі використання, до дії антисептиків. Для позбавлення цих мікроорганізмів, інкорпорованих у біоплівку, життєздатності, необхідне застосування високих концентрацій антисептиків при великій експозиції дії, що у практичних умовах здійснити неможливо. Тим не менше, зрошення поверхні ЕІТ розчинами декаметоксину може забезпечити профілактичний ефект, оскільки впливає на швидкість утворення біоплівки на поверхні ЕІТ.

Нами досліджено швидкість утворення біоплівки на фрагментах ЕІТ клінічними штамами псевдомонад в присутності суббактеріостатичної концентрації (10 мкг/мл) декаметоксину. Одержані результати ілюструє малюнок 4.10.

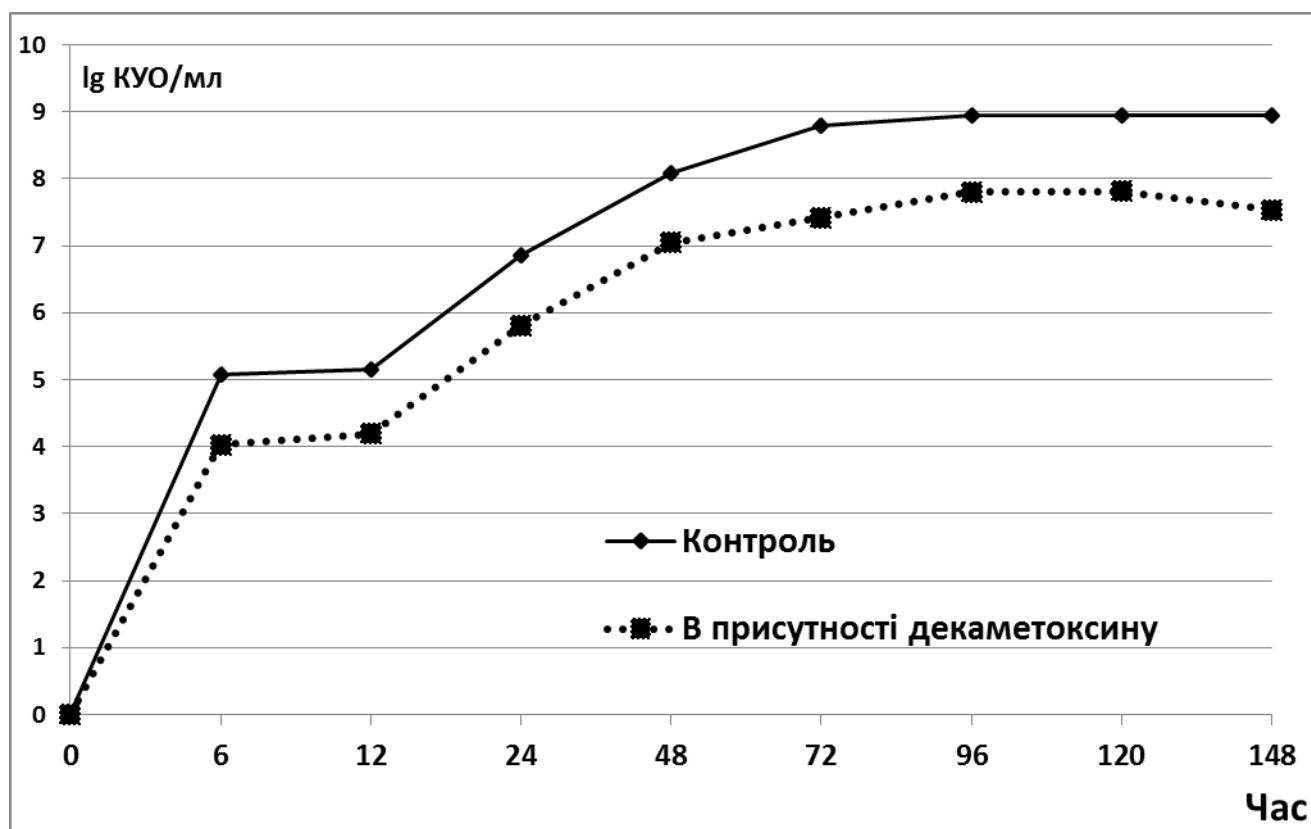


Рис. 4.10. Динаміка утворення біоплівки на поверхні ЕІТ в присутності суббактеріостатичної концентрації (10 мкг/мл) декаметоксину.

Аналіз діаграми показує, що крива кількості життєздатних клітин

псевдомонад у біоплівці, утвореній в присутності суббактеріостатичної концентрації декаметоксину, повторює криву кількості мікроорганізмів у біоплівці, утвореній в звичайному поживному середовищі, проте більш ніж на один порядок на нижчому рівні. Так, якщо в звичайних умовах після 6-ти годинної експозиції з дезінтегрованої ультразвуком біоплівки виділялось $\lg 5,08$ КУО/мл псевдомонад, то з біоплівки, утвореної в присутності суббактеріостатичної дози декаметоксину, лише $\lg 4,03$ КУО/мл. На піку кількості життєздатних клітин у біоплівці після 4-х діб культивування у звичайному поживному середовищі виявляли $\lg 8,95$ КУО/мл псевдомонад. В присутності антисептика визначено, що максимальна кількість життєздатних клітин у біоплівці не перевищувала $\lg 7,81$ КУО/мл.

До того ж максимальна кількість життєздатних клітин у біоплівці в звичайних умовах досягалась після чотирьох діб культивування, а в присутності антисептика – по завершенні п'ятої доби. Судячи по нахилу кривої після п'ятої доби культивування, більш стрімко в присутності суббактеріостатичної дози антисептика відбуваються процеси відмирання псевдомонад.

Таким чином, навіть суббактеріостатичні для паличок синьо-зеленого гною концентрації декаметоксину здатні впливати на процес плівкоутворення, зменшуючи кількість життєздатних клітин в їх структурі.

Заключення до розділу 4

На поверхні ЕІТ в експериментальних умовах утворення біоплівок неферментуючими грамнегативними бактеріями найбільш інтенсивно відбувається на другу-третю добу перебування зразка у культурі мікроорганізмів в рідкому поживному середовищі і завершується у кінці четвертої доби. При цьому процес плівко утворення *P. aeruginosa* за швидкістю випереджає аналогічний процес *A. baumannii*.

Плівкові форми неферментуючих бактерій характеризуються підвищеним рівнем резистентності до антисептиків з числа четвертинних амонієвих похідних, похідних бігуанідину, йодвмісних препаратів та окислювачів. Мінімальні

бактерицидні концентрації декаметоксину, хлоргексидину, повідон-йоду для плівкових форм псевдомонад і акінетобактерій у 2,4 – 3,6 рази вищі, ніж для планктонних форм тих же штамів мікроорганізмів. Стійкість плівкових форм псевдомонад до перекису водню зростала у 12,8 разів у порівнянні з планктонною формою, а у акінетобактерій – у 14,2 разів.

Антисептик декасан виявився неефективним у знезаражуванні фрагментів ЕІТ, вкритих біоплівками неферментуючих бактерій. Шляхом занурення зразків ЕІТ, вкритих біоплівкою неферментуючих бактерій, у антисептик горостен чи 0,05% водний розчин біглюконату хлоргексидину повне знезараження досягалось при експозиції дії від 2,5 до 4 годин. Повне позбавлення життєздатності клітин неферментуючих бактерій у складі біоплівок 0,1% водним розчином декаметоксину і 3% розчином перекису водню досягали при експозиції дії 30 хвилин.

Декаметоксин у суббактеріостатичній концентрації гальмує процес плівкоутворення на поверхні зразків ЕІТ псевдомонадами.

Результати досліджень, наведених у даному розділі, були висвітлені у наступних публікаціях:

1. Динаміка утворення біоплівок неферментуючими грамнегативними бактеріями на поверхні ендотрахеальних трубок / В.П. Ковальчук, В.М. Кондратюк, Н.С. Фоміна, Ю.Ю. Трофіменко // Мікробіологія та імунологія – перспективи розвитку в ХХІ столітті : міжнар. наук. конф., 10-11 квітня 2014р. : тези доп. – Київ, 2014. – С.58-59.

2. Ковальчук В.П. Результати порівняльного дослідження чутливості до антисептиків плівкових та планктонних форм бактерій/ В.П.Ковальчук, В.М.Кондратюк, Ю.Ю.Трофіменко// Biomedical and Biosocial Antropology.- 2014.- №22.- С. 82-85.

РОЗДІЛ 5

РЕЗУЛЬТАТИ ПОШУКУ ЕФЕКТИВНИХ СПОСОБІВ ПОПЕРЕДЖЕННЯ КОЛОНІЗАЦІЇ ЕІТ МІКРООРГАНІЗМАМИ

Пошук шляхів зменшення ризику виникнення ВАП у хворих, що потребують дихальної підтримки, є важливим завданням медичної науки. Відомий досвід успішного практичного застосування полімерних ендопротезів, на поверхню, яких нанесене протимікробне покриття, внутрішньосудинних та уретральних катетерів. В доступній науковій літературі майже відсутні повідомлення про можливість використання подібного способу для попередження колонізації мікроорганізмами ЕІТ, як методу усунення одного з резервуарів надходження небезпечних мікроорганізмів у легеневу тканину важкохворих. Між тим, правомірно припустити, що наявність на поверхні ЕІТ шару, здатного гальмувати процеси бактеріального плівкоутворення, зменшить ступінь контамінації легеневої тканини патогенами і тим самим знизить ризики виникнення ВАП.

5.1 Характеристика протимікробних композицій для надання антисептичних властивостей поверхні ЕІТ

З метою вибору оптимального складу для надання поверхні ЕІТ протимікробних властивостей нами досліджено можливість використання трьох адгезивних композицій на основі декаметоксину.

Протимікробний антисептичний засіб, що включає гідрофобний адгезивний полімер полівінілбутираль, наступного складу: декаметоксину – 0,5 г; полівінілбутирально – 4,0 г; спирту етилового 96°- до 100,0 мл (Склад №1). Полівінілбутираль є продуктом взаємодії масляного альдегіду та полівінілового спирту, що не розчиняється у воді, використовувався як складова клейових

композицій медичного призначення. Аналогічна антисептична композиція, що додатково містила цитраль для надання засобу приємного запаху, під назвою амосепт, Наказом № 40 МОЗ України від 12.03.93 р. була дозволена до застосування для знезараження рук хірургічного медперсоналу. Відомий позитивний досвід використання складу на основі полівінілбутиралу для надання антисептичних властивостей уретральним катетерам [160].

Для дослідження можливості надання за допомогою даної композиції антимікробних властивостей поверхні ЕІТ, їх сегменти замочували у розчині і висушували у стерильному боксі. В процесі замочування антимікробна композиція добре розтікалась по поверхні ЕІТ і рівномірно її змочувала. Після висихання на поверхні ЕІТ утворювалась тонка полімерна плівка матового відтінку.

Друга використана у дослідженнях протимікробна композиція (Склад №2) у якості адгезивної основи утримувала високомолекулярний полівінілпіролідон «Плаздон S-630», добре розчинний у воді і етиловому спирті. Полімер внесений до Європейської Фармакопеї і Фармакопеї США. У фармації використовується для створення препаратів з контрольованим вивільненням діючих речовин, як зв'язувальна речовина у виробництві таблеток, як плівкоутворювальний агент для нанесення оболонки, виявляє дезінтоксикаційні властивості.

Досліджена антисептична композиція мала наступний склад: декаметоксину - 0,5 г; полівінілпіролідону – 15 г; спирту етилового 96° – до 100,0 мл.

Поверхня досліджуваних сегментів ЕІТ добре змочувалась при зануренні у розчин означеного складу. Після висушування на поверхні сегментів ЕІТ спостерігали утворення рівномірної блискучої полімерної плівки.

Третя обрана для дослідження антисептична композиція мала адгезивні властивості завдяки введення у склад гідрофільних природних полімерів карбоксиметилкрохмалю, оксиетилцелюлози та полівінілацетатної дисперсії у наступних співвідношеннях: декаметоксину - 0,1 г; натрієвої солі карбоксиметилкрохмалю – 0,9 г; оксиетилцелюлози – 0,3 г; полівінілацетатної дисперсії 0,2 г; води очищеної – до 100,0 мл. Композиція такого складу

запропонована для надання пролонгованих антимікробних властивостей текстильним матеріалам медичного призначення. В експериментальних дослідженнях доведено протимікробну активність запропонованого складу та можливість його використання для надання пролонгованих протимікробних властивостей волокнистим матеріалам [162, 164].

При зануренні у даний склад фрагментів ЕІТ не вдалось досягти рівномірного змочування поверхні. Гідрофобність полімерної поверхні обумовила швидке збирання рідини силами поверхневого натягу у окремі плями на поверхні. Крім того, тривалість висушування водного розчину була значною. Навіть після повного висушування утворення рівномірної полімерної плівки на поверхні досліджуваного сегменту ЕІТ не досягали. Враховуючи викладене від подальшого використання цієї композиції у дослідженнях для надання протимікробного захисту поверхні ЕІТ ми відмовились. Вочевидь, розроблена композиція придатна для надання протимікробних властивостей гідрофільним матеріалам, а також структурам, що володіють капілярністю.

З метою визначення фармацевтичної сумісності декаметоксину і використаних адгезивних полімерів, використовуючи музейні еталонні штами бактерій, нами проведено порівняльне дослідження протимікробної активності субстанції декаметоксину, протимікробних складів № 1 та № 2. Одержані результати ілюструє таблиця 5.1.

Таблиця 5.1

Порівняльна характеристика протимікробної активності субстанції
декаметоксину, протимікробних композицій №1 та №2

Тест-культура бактерії	Декаметоксин	Склад №1	Склад №2
	МБцК в перерахунку на декаметоксин (мкг/мл.)		
<i>S. aureus</i> ATCC 2592	2,4	4,8	2,4
<i>E. coli</i> ATCC 25922	19,5	39,1	19,5
<i>P. aeruginosa</i>	156,3	312,5	156,3

ATCC 27853			
------------	--	--	--

Порівняння проводили по мінімальній бактерицидній концентрації у перерахунку на кількість декаметоксину у розведенні антисептичної композиції. Мінімальну бактериостатичну концентрацію визначити було важко через опалесценцію полімерів при розведенні у МПБ. Як свідчать наведені у таблиці 5.1 дані, мінімальні бактерицидні концентрації субстанції антисептика та антисептичного складу № 2 для узятих у дослід тест-мікроорганізмів повністю співпадали. Для протимікробного складу № 1 МБцК була у двічі більшою, у порівнянні з субстанцією антисептика, тобто відрізнялась на одно розведення. Це пояснюється присутністю гідрофобного полімеру у складі. При його внесенні у МПБ відбувалось випадіння згустків полівінілбутиралу у осад. Правомірно припустити, що частина антисептика залишалась при цьому зв'язаною у гідрофобному згустку.

Таким чином, слід вважати, що декаметоксин фармацевтично цілком сумісний з використаними адгезивними полімерами і у складі запропонованих антисептичних композицій повністю зберігає протимікробну активність.

5.2 Характеристика протимікробного впливу ЕІТ з антисептичними покриттям

Ефективність протимікробного захисту поверхні ЕІТ адгезивними антисептичними композиціями визначали за величиною зони затримки росту мікроорганізмів навколо досліджуваних фрагментів ЕІТ (рис. 5.1). У досліді використовували клінічні штами бактерій, виділені з поверхні використаних ЕІТ.

Зображення на малюнку показує відсутність будь якого пригнічуючого ріст бактерій впливу навколо звичайних стерильних фрагментів ЕІТ (контроль). Навколо зразків з антисептичним покриттям чітко видно зони затримки росту мікроорганізмів.



Рис. 5.1. Зони затримки росту мікроорганізмів навколо досліджуваних фрагментів ЕІТ (по центру – контроль, зліва – вкритий складом № 2, справа – вкритий складом № 1).

У таблиці 5.2 узагальнені числові дані, що характеризують величини зон затримки росту мікроорганізмів, що найчастіше виділялись з поверхонь ЕІТ, навколо фрагментів ЕІТ з різним протимікробним покриттям. Враховували ширину зони відсутності росту по обидві сторони зразка в міліметрах без урахування ширини самої дихальної трубки.

Наведені в таблиці 5.2 дані свідчать про те, що внаслідок нанесення адгезивних антисептичних композицій обох складів поверхні фрагментів ЕІТ набули виражених протимікробних властивостей. Найбільші зони затримки росту навколо досліджуваних зразків спостерігали у грампозитивних коків. Так, зони затримки росту стафілококів навколо фрагментів ЕІТ, вкритих кожною антисептичною композицією, були близькими до 30 мм. Дещо меншими були зони затримки росту у ентерококів ($23,7 \pm 2,1$ – $25,2 \pm 2,8$ мм). При цьому статистично достовірних відмінностей у рівні протимікробного впливу фрагментів, укритих антисептичними композиціями на основі різних адгезивів,

не встановлено.

Таблиця 5.2

Характеристики величини зон затримки росту мікроорганізмів(в мм), що найчастіше виділялись з поверхонь ЕІТ, навколо фрагментів ЕІТ з різним протимікробним покриттям

Рід мікроорганізмів	Кількість досліджень	Протимікробний склад, яким укритий зразок		Р
		Склад № 1	Склад № 2	
Staphylococcus	10	28,3±2,2	29,2±2,4	>0,05
Enterococcus	10	23,7±2,1	25,2±2,8	>0,05
Klebsiella	10	18,2±1,7	15,3±1,1	<0,05
Enterobacter	10	17,4±1,7	16,5±1,5	>0,05
Acinetobacter	15	12,2±1,2	10,8±1,2	<0,05
Pseudomonas	8	6,2±0,5	6,6±0,4	>0,05

Грамнегативні бактерії характеризуються нижчим рівнем чутливості до декаметоксину, у порівнянні з грампозитивними, що знайшло підтвердження у результатах даних досліджень. Зони затримки росту клебсіел та представників роду Enterobacter коливались у межах від 15,3±1,1 мм до 18,2±1,7 мм. Міжродові відмінності у чутливості до впливу антисептичного покриття були зовсім незначними, адже різниця у величині зон затримки росту була близькою 1-го мм. Статистично достовірною була різниця у чутливості клебсіел до впливу виробів, укритих антисептичними композиціями на основі різних адгезивів. Навколо фрагментів з гідрофобним покриттям зони затримки росту клебсіел були більшими, ніж навколо зразків, укритих композицією на основі полівінілпіролідону. З'ясування причин цієї різниці не входило у завдання нашого дослідження.

Найменш вираженим був антисептичний ефект фрагментів ЕІТ, укритих протимікробними адгезивами, у відношенні неферментуючих грамнегативних бактерій. Тим не менше, навіть палички синьо-зеленого гною утворювали зону

затримки росту у поживному середовищі навколо зразків шириною понад 6 мм.

Дослідження тривалості збереження протимікробних властивостей зразками, укритими різними адгезивними композиціями, в умовах відмивання ізотонічним розчином хлориду натрію показало перевагу антисептичного покриття на гідрофобній основі. Одержані результати ілюструють рисунки 5.2 та 5.3.

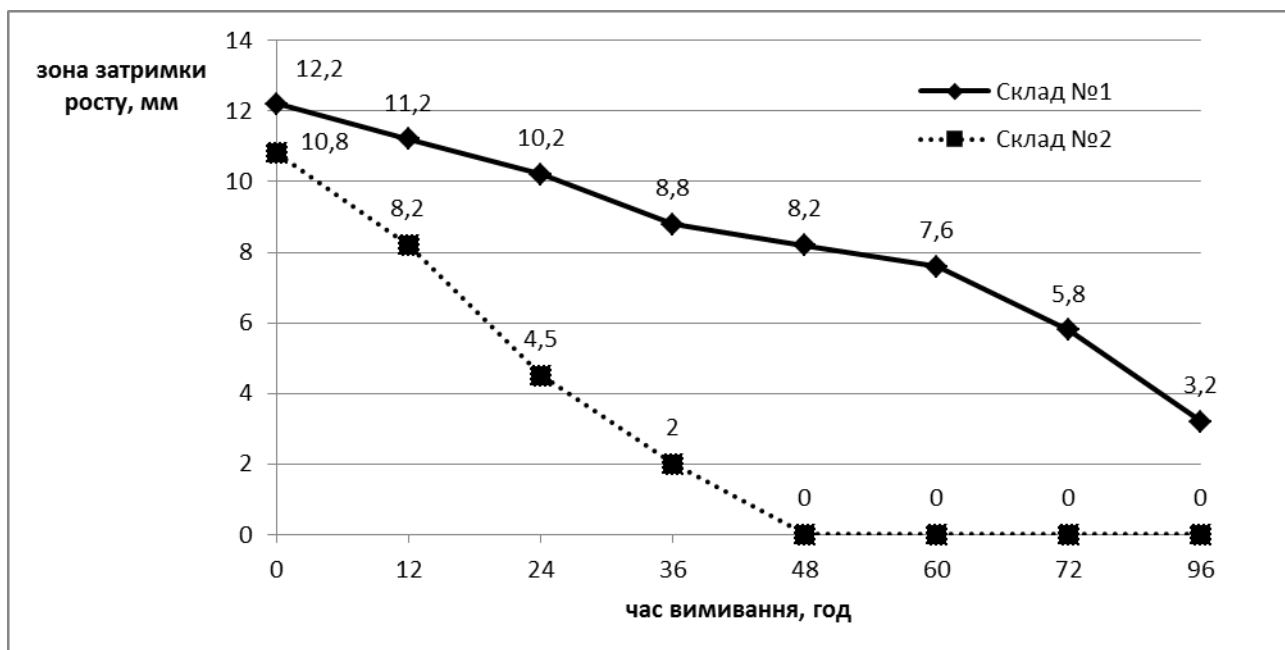


Рис. 5.2. Швидкість втрати протимікробної активності у відношенні акінетобактерій зразками, вкритими різними протимікробними композиціями, в умовах відмивання ізотонічним розчином хлориду натрію.

На рисунку 5.2 відображена динаміка зменшення зон затримки росту акінетобактерій навколо фрагментів ЕІТ, вкритих різними протимікробними композиціями, при їх відмиванні з різною часовою експозицією ізотонічним розчином хлориду натрію. Після відмивання зразків протягом 12 год. величина зони затримки росту акінетобактерій навколо зразка з антимікробним покриттям на основі полівінілбутиралу зменшилась на 1 мм (8,2% від початкової величини). Навколо зразка з антимікробним покриттям на основі полівінілпіролідону при тій же експозиції відмивання, зона затримки росту мікроорганізмів була меншою початкової більш ніж на 20%. Після відмивання протягом 24 годин величина

зони затримки росту навколо фрагменту, укритого складом № 1, становила 83,6% від початкової величини. Зразки, укриті складом № 2, утворювали зону затримки росту не більшу, ніж 42 % величини зони навколо свіжовиготовленого зразка.

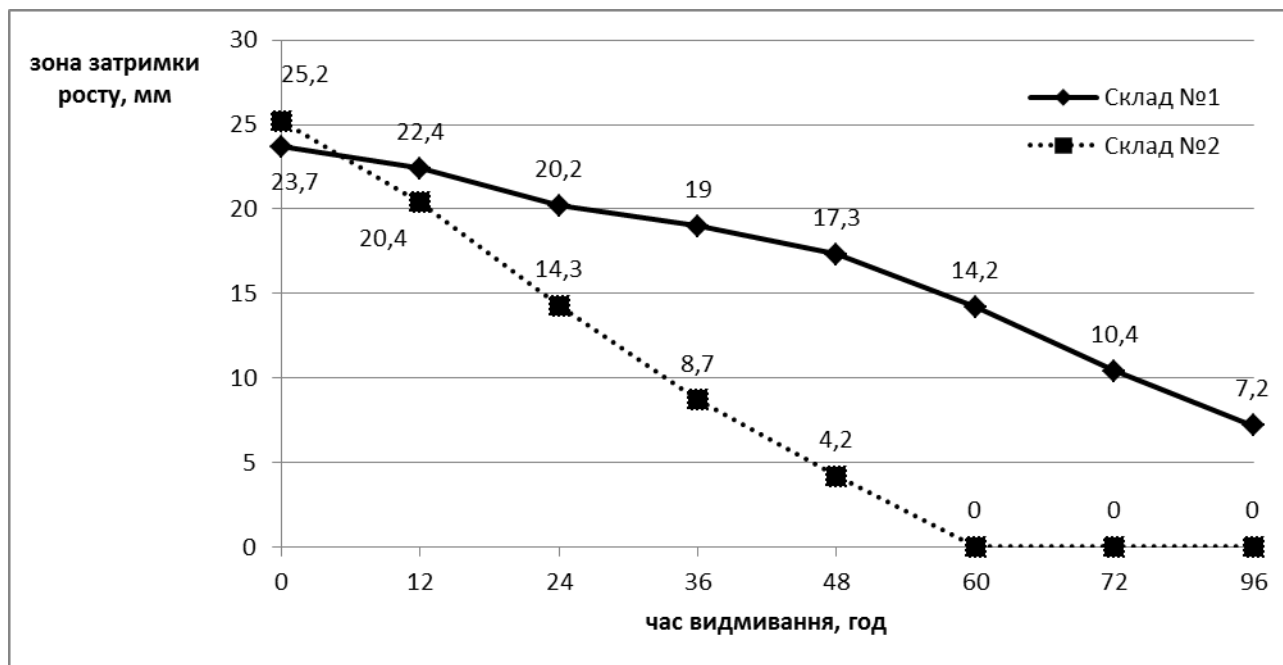


Рис. 5.3. Швидкість втрати протимікробної активності у відношенні ентерококів зразками, вкритими різними протимікробними композиціями, в умовах відмивання ізотонічним розчином хлориду натрію.

По збігу 2 діб відмивання зразки, укриті складом № 2, не утворювали зон затримки росту акінетобактерій, тобто не чинили протимікробної дії у оточуючому їх середовищі. Зразки з покриттям на основі полівінілбутиралу у цей термін, виходячи із зменшення величини зон затримки росту послабили протимікробний вплив не більше ніж на третину. Повної втрати протимікробного впливу на акінетобактерій у зразків з подібним антисептичним покриттям не спостерігали і після 96-ти годинного перебування у ізотонічному розчині хлориду натрію.

З числа грампозитивних бактерій для аналогічного дослідження були обрані ентерококи, які з близькою частотою виділялись з поверхонь ЕІТ пацієнтів різних вікових груп. Рисунок 5.3 ілюструє швидкість зменшення зон

затримки росту ентерококів навколо фрагментів ЕІТ, вкритих різними антисептичними адгезивами.

В цілому, закономірності втрати потужності протимікробного впливу трубок з різним антимікробним покриттям на ентерококи повторюють наведені вище для акінетобактерій. Вочевидь, враховуючи вищий рівень чутливості ентерококів до декаметоксину, зразки ЕІТ, укриті адгезивом на основі полівінілпіролідону, зберігають протимікробний вплив на ентерококи на 12 годин довше, ніж на акінетобактерії. Однак, безумовну перевагу за цим показником виявлено при використанні для надання протимікробних властивостей поверхні ЕІТ адгезиву на основі полівінілбутиралу, який забезпечив наявність зони затримки росту ентерококів величиною 7,2 мм після 96-ти годинного відмивання ізотонічним розчином хлориду натрію.

Таким чином, враховуючи тривалість збереження протимікробного впливу для протимікробного захисту поверхонь ЕІТ, доцільно використовувати антисептичну адгезивну композицію на основі декаметоксину і гідрофобного полімеру полівінілбутиралу. Протимікробна водорозчинна плівка на основі полівінілпіролідону, на початку використання може забезпечити протимікробний захист поверхні ЕІТ. Однак, в процесі довготривалого контакту з секретом слизових буде втрачати ефективність.

Переваги використання для надання протимікробних властивостей поверхні ЕІТ складу на основі полівінілбутиралу підтвердили результати експериментального дослідження процесів плівкоутворення *P. aeruginosa* на фрагментах ЕІТ з різним протимікробним покриттям. Біомасу бактеріальної плівки на поверхні фрагментів ЕІТ стандартного розміру, вкритих антисептичними композиціями на основі декаметоксину і різних адгезивів, оцінювали по кількості колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів у зависі після ультразвукової дезінтеграції біоплівки при інкубації із поступовим збільшенням експозиції. З урахуванням можливого пригнічуючого впливу на розмноження псевдомонад вимитого з покриття антисептика інкубацію зразків стандартного розміру проводили у збільшеному до 10 мл об'ємі МПБ. На

рисунку 5.4 зображені графіки зростання кількості бактеріальних клітин у біоплівках на поверхні досліджуваних зразків, у порівнянні з контрольними зразками без антисептичного покриття.

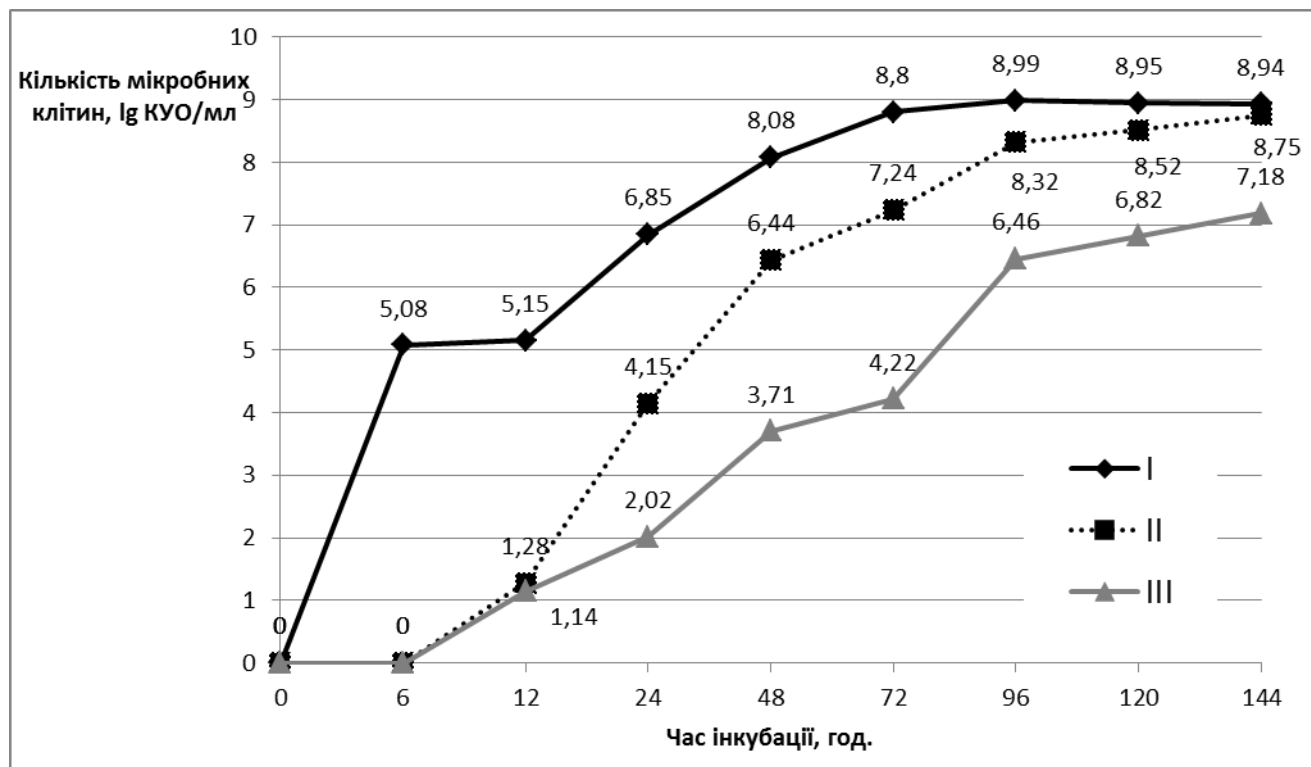


Рис. 5.4. Динаміка процесу плівкоутворення *P. aeruginosa* на зразках ЕІТ з антимікробним покриттям (I – контрольні зразки; II – зразки, захищені складом № 2; III – зразки, захищені складом № 1).

Аналіз зображених графіків свідчить про те, що наявність антисептичного покриття істотно гальмує процес плівкоутворення псевдомонадами на поверхні ЕІТ. Процес плівкоутворення на контрольних зразках без антисептичного покриття розпочинався з перших годин інкубації у культурі псевдомонад і після 6-ти годин перебування зразка у зависі кількість клітин на поверхні була більшою lg 5 КУО/мл. У ізотонічному розчині після ультразвукової дезінтеграції зразків з антисептичним покриттям, незалежно від його складу, при такій експозиції інкубації лише у окремих серіях дослідів виявлялись поодинокі КУО псевдомонад. Це дозволяє стверджувати про відсутність адгезії бактерій на поверхні зразків у перші години інкубації.

Незначною була кількість мікроорганізмів на поверхні зразків ЕІТ з захищеною поверхнею після 12-ти годинної інкубації. В кінці першої доби культивування виявилась істотна різниця у кількості бактерій на поверхні зразків з різним антисептичним складом. З зразків, на поверхню яких було нанесено антисептичний склад № 2, дезінтегрувалось значно менше клітин псевдомонад, ніж з контрольних зразків, проте на два порядки більше, ніж із зразків, укритих антисептичним складом № 1. По завершенні другої доби культивування ця різниця зросла ще більше. Мікроскопічну картину поверхні зразків ЕІТ, вкритих різними антисептичними адгезивами, після 48-ми годинної інкубації демонструють рисунки 5.5 та 5.6.

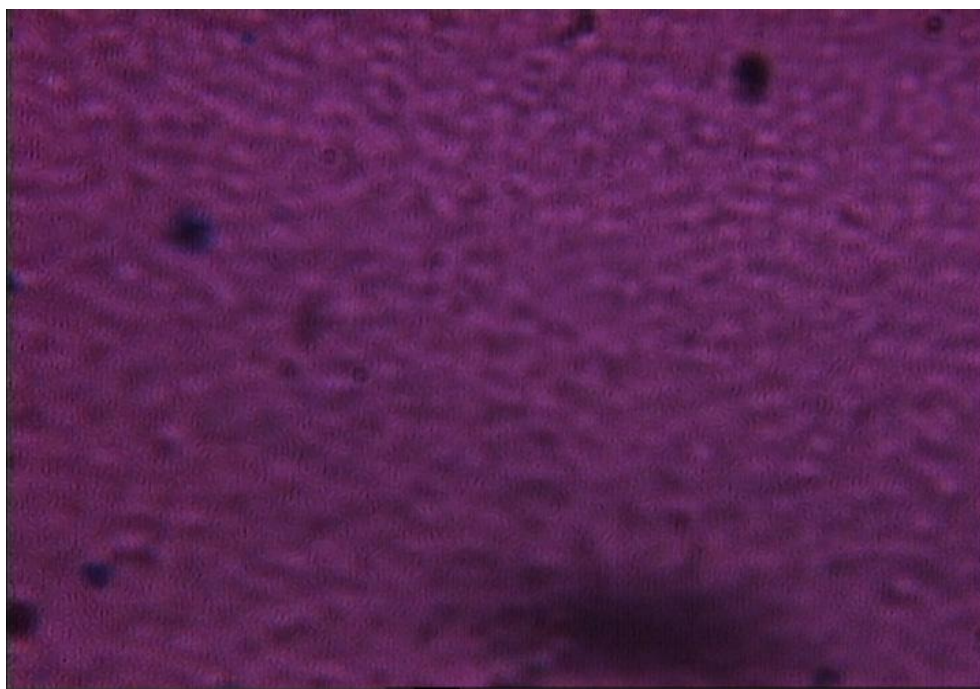


Рис. 5.5. Поверхня ЕІТ з антисептичним покриттям на основі полівінілбутиралу після 48-ми годинного культивування у середовищі, засіяному *P. aeruginosa*. Забарвлення фуксином, $\times 400$.

На поверхні зразка з гідрофобним полівинилбутиралеvim покриттям помітні поодинокі бактеріальні конгломерати. На поверхні зразка з іншим покриттям острівків плівкоутворення значно більше.

Більш швидка втрата протимікробної дії поверхнею зразків з протимікробним покриттям № 2 виявилась у тому, що на четверту-п'яту добу інкубації з їх поверхні виділялась кількість клітин близька до кількості на поверхнях контрольних зразків. Із поверхні зразків, вкритих складом на основі полівинілбутиралу, до завершення терміну спостереження виділялось бактеріальних клітин майже на 2 порядки менше.

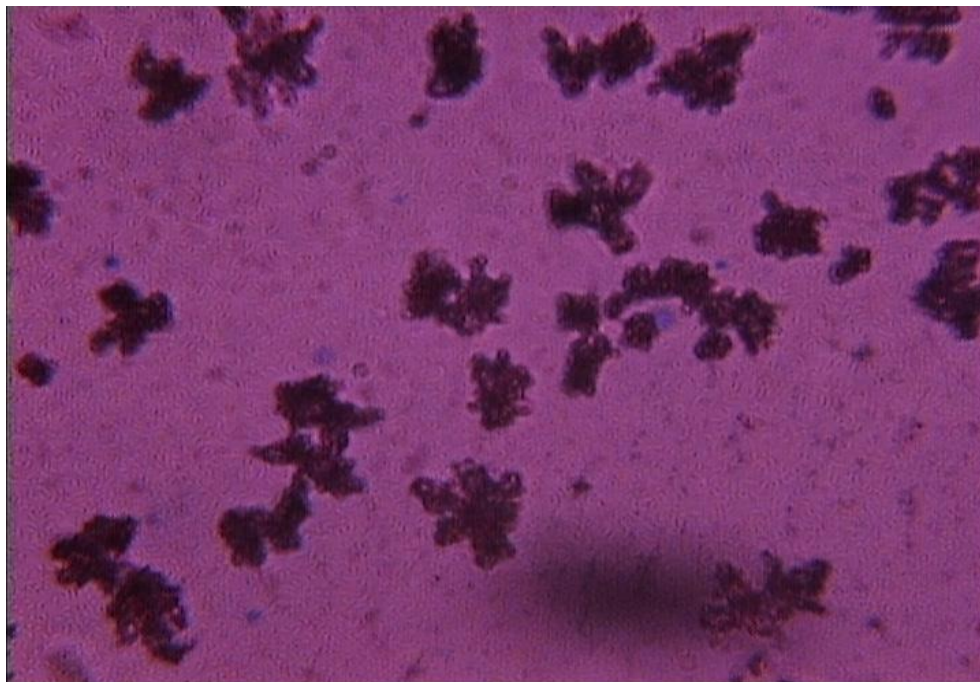


Рис. 5.6. Поверхня ЕІТ з антисептичним покриттям на основі полівінілпіролідону після 48-ми годинного культивування у середовищі, засіяному *P. aeruginosa*. Забарвлення фуксином, $\times 400$.

Таким чином протимікробний захист поверхні ЕІТ можливо здійснити за допомогою обох розроблених антисептичних адгезивних композицій. Однак, композиція на основі полівинілбутиралу забезпечує більш тривалий протимікробний захист поверхонь, ніж композиція на основі полівінілпіролідону.

Заключення до розділу 5

Наведені у розділі результати експериментальних досліджень підтверджують можливість протимікробного захисту поверхні ЕІТ адгезивними антисептичними композиціями на основі антисептика декаметоксину. Їх нанесення на поверхню трубок супроводжується утворенням антисептичної плівки, яка протягом тривалого часу виділяє у оточуюче середовище декаметоксин і запобігає адгезії мікроорганізмів. Дане положення підтверджено спостереженнями величини зон затримки росту мікроорганізмів, що найчастіше виділяються з поверхонь ЕІТ у клінічних умовах, навколо зразків трубок з антисептичним покриттям.

Результати порівняльного дослідження ефективності протимікробного захисту поверхонь ЕІТ адгезивними композиціями на основі декаметоксину і різних адгезивних полімерів показали, що перевагу має антисептична композиція на основі гідрофобного полімеру полівінілбутиралу. В умовах контакту з рідинами антисептична полімерна плівка водорозчинної композиції на основі полівінілпіролідону на поверхні ЕІТ швидше втрачає протимікробні властивості, що впливає на ефективність протимікробного захисту.

Крім того, в експериментальних умовах доведено, що на поверхні трубок з антисептичним покриттям процеси утворення біоплівки псевдомонадами перебігають відтерміновано і уповільнено. Використання ЕІТ з антимікробним покриттям в клінічних умовах для тривалої ШВЛ дозволить віддалити контамінацію тканин респіраторного тракту мікрофлорою, зменшити мікробне навантаження паренхіми легень і зменшити таким чином ризики виникнення ВАП.

Результати досліджень, наведених у даному розділі, були висвітлені у наступних публікаціях:

1. Засіб для надання поверхні виробів медичного призначення антимікробних властивостей / В.М. Кондратюк, Ю.Ю. Трофіменко, В.П. Бобрук [та ін.] // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2012. - № 18. – С. 221-223.

2. Антимикробные свойства антисептических композиций

прлонгированного действия / Г.К. Палий, А.А. Назарчук, Д.В. Палий, Г.Г. Назарчук, О.О. Гончар, В.В. Сухляк, Ю.Ю. Трофіменко, Н.В. Задерей, О.К. Стукан // Антибиотики и химиотерапия. -2013. - №58 (3-4). – С. 14-18.

3. Композиція для надання медичним текстильним матеріалам антимікробних властивостей з пролонгованою дією. / Назарчук О.А., Назарчук Г.Г., Кордон Ю.В., Поліщук Н.С., Задерей Н.В., Трофіменко Ю.Ю., Гончар О.О. // Реєстр галузевих нововведень. – 2014. – Вип. 38–39. – Реєстр № 23/38/13. – С. 18 – 19.

4. Антисептичні розчини на основі декаметоксину в порівнянні з повідон-йодом для профілактики обробки шкіри при догляді за венозними катетерами / В.М. Кондратюк, Ю.Ю. Трофіменко, О.П. Кондратюк [та ін.] // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2012. - № 3 (27). – С.56-59.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Негативним наслідком технологічного прогресу медичної допомоги є поява додаткових резервуарів і шляхів розповсюдження збудників опортуністичних інфекцій. Застосування ШВЛ, забезпечуючи виживання важкохворих, породило проблему ВАП, яка негативно впливає на кінцеві показники ефективності лікування[8, 29].

Колонізація мікроорганізмами ЕІТ в процесі надання респіраторної підтримки створює джерело безперервної рясної контамінації тканини легень і є однією із беззаперечних причин високої частоти ВАП. Процеси бактеріального плівкоутворення на поверхні ЕІТ залишаються малодослідженими, що стримує розробку комплексу заходів по профілактиці ВАП [2, 9].

Метою цієї роботи було підвищення ефективності заходів профілактики вентилятор-асоційованих пневмоній у хворих, що потребують тривалої дихальної підтримки, шляхом вивчення закономірностей колонізації поверхонь ендотрахеальних інтубаційних трубок мікроорганізмами та розробки способу її попередження.

В результаті виконання запланованих досліджень було розв'язано наступні задачі: досліджено видовий склад мікрофлори, що колонізує поверхню ЕІТ в процесі тривалої ШВЛ, у пацієнтів неонатологічних та «дорослих» ВРІТ, визначено її чутливість до широкого спектру сучасних антибіотиків та антисептиків, досліджено в умовах експерименту швидкість плівкоутворення неферментуючими грамнегативними бактеріями на поверхні ЕІТ, визначено різницю в чутливості до антисептиків планктонних та плівкових форм бактерій та експозиції знезараження антисептиками ЕІТ, вкритих біоплівкою, підібрано оптимальний склад адгезивної антисептичної композиції для надання поверхні ЕІТ протимікробних властивостей, досліджено процеси бактеріального плівкоутворення на поверхні ЕІТ з антисептичним покриттям.

Всього досліджено 84 дихальних трубки, що не менше 4-х діб знаходились у дихальних шляхах пацієнтів, яким у цей період проводилась ШВЛ. Визначення характеру мікробної контамінації дихальних трубок проводили шляхом посіву сегмента на щільне поживне середовище шляхом прокатування по поверхні поживного середовища. В процесі досліджень виділено 194 штами мікроорганізмів.

Біохімічні властивості виділених мікроорганізмів та їх видову ідентифікацію проводили з використанням тест-систем СТАФІтест-16, ЕНТЕРОтест-24 та НЕФЕРМтест-24 (PLIVA – Lachema a. s. Брно, Чеська республіка). Чутливість виділених культур мікроорганізмів до антибіотиків та антимікотиків проводили диско-дифузійним методом. Кількісне вивчення чутливості виділених штамів до антимікробних препаратів проводили методом серійних послідовних двократних розведень у рідкому поживному середовищі.

В результаті проведених досліджень встановлено, що у колонізації та плівкоутворенні на поверхні ЕІТ важкохворих пацієнтів ВРІТ приймають участь умовно-патогенні мікроорганізми. З загального числа виділених штамів 23,2% належали до неферментуючих грамнегативних бактерій, 19,1% - до ентеробактерій, 17,5% - до стафілококів, 14,4% до ентерококів. Одержані дані співпадають з результатами більшості досліджень, проведених в останні роки в нашій країні і за її межами [63, 65, 66].

Виявлено істотну різницю у видовому складі мікроорганізмів, виділених у пацієнтів різних вікових груп та лікувальних закладів. Так у дорослих пацієнтів ВРІТ у мікробному спектрі біоплівки поверхні ЕІТ переважала грамнегативна флора, представлена переважно неферментуючими паличками. Лідерами за частотою виділення у цієї категорії пацієнтів були представники роду *Acinetobacter*, які виділялись у 60,5% обстежених. В цілому питома вага неферментуючих грамнегативних бактерій у мікробному спектрі, виділеному у даної групи хворих, становила 37,6%, грампозитивних коків – 23,9%.

За даними літератури найчастішими збудниками ВАП у новонароджених є стафілококи і палички синьо-зеленого гною [170]. Нами у пацієнтів відділень

реанімації новонароджених з поверхні тривало використаних ЕІТ найчастіше виділялись грампозитивні коки, представлені переважно бактеріями родів *Staphylococcus* (58,3%) та *Enterococcus* (38,9%). Питома вага грампозитивних коків у загальній кількості виділених у цієї категорії пацієнтів штамів мікроорганізмів сягала 57,8%, тоді як грамнегативні неферментуючі бактерії складали лише 4,7% і представлені були виключно акінетобактеріями.

Виявлена різниця видового складу мікрофлори, виділеної з поверхонь ЕІТ пацієнтів різних груп може бути поясненою віковими особливостями складу нормофлори, віковими особливостями розвитку респіраторного тракту та імунного статусу, локальними особливостями мікроекології лікувальних закладів. Безсумнівним є вплив різниці схем лікування. Так усі новонароджені одержували екзогенні сурфактанти і потужну антибіотикопрофілактику пневмоній, що обов'язково включала захищені амінопеніциліни. У дорослих частіше використовувались фторхінолони і антибіотики карбапенемового ряду.

Представники родини *Enterobacteriaceae* у обох вікових групах виділялись з близькою частотою, що становила 16,7% – 25% випадків. Мікроорганізми цієї родини найчастіше були представлені бактеріями родів *Klebsiella* та *Enterobacter*.

Привернула увагу висока частота (13,9 % – 16,7%) присутності у мікробіоценозах поверхні ЕІТ коків роду *Kocuria* та *Corinebacterium* (19,4 % – 22,9%). Участь цих видів мікроорганізмів у розвитку ВАП недоведена. Однак потребує дослідження роль коринебактерій і кокурій в процесах плівкоутворення на поверхні полімерних виробів медичного призначення. Адже у плівковому мікробіоценозі вони можуть сприяти виживанню більш небезпечних бактерій.

Виділені штами мікроорганізмів характеризувались полірезистентністю до антибіотиків. З числа виділених штамів стафілококів 94,1% були резистентними до оксациліну і антибіотика резерву меропенему. Більшості (62,5%) виділених штамів клебсієл була притаманна продукція β-лактамаз. Неферментуючі грамнегативні палички у ряді випадків характеризувались тотальною резистентністю до усіх використаних у дослідженні антибіотиків. Жоден з виділених штамів акінетобактерій не виявив чутливості до ципрофлоксацину,

тетрацикліну, хлорамфеніколу, амоксициліну, амоксициліну/клавуланату. До цефалоспоринів III покоління були чутливими лише 9,9% виділених штамів цього виду мікроорганізмів. До антибіотика резерву меропенему, що найчастіше використовується у ВРІТ, виявляли чутливість 25% штамів псевдомонад і 18,2% штамів акінетобактерій. Протимікробного засобу системного застосування, до якого були б чутливими усі виділені з поверхонь ЕІТ штами мікроорганізмів, не виявлено.

Штами мікроорганізмів, що колонізують ЕІТ, зберігають чутливість до використовуваних у сучасній медичній практиці антисептиків. Рівень чутливості представників окремих родів бактерій до різних антисептиків коливається у широкому діапазоні. Найвищий рівень чутливості до більшості досліджених антисептиків виявляли стафілококи. Найбільш витривалими до дії антисептиків виявились *P. aeruginosa*.

Найнижчий рівень активності у відношенні виділених з поверхонь ЕІТ штамів мікроорганізмів встановлено для повідон-йоду. Середня МБцК повідон-йоду для псевдомонад сягала понад 12000 мкг/мл, для ентерококів – близько 10000 мкг/мл. Концентрація препарату у антисептиках, які випускаються фармпромисловістю, становить 100000 мкг/мл і є цілком достатньою для знищення любых бактерій, у т.ч. псевдомонад та ентерококів. Однак, практичні лікарі з метою уникнення подразнюючого впливу препарату на тканини організму людини, іноді вдаються до розведення робочого розчину у десять разів. При цьому концентрація повідон-йоду у розчині стає меншою ніж середня МБцК для псевдомонад.

Перспективним для подальших досліджень виявився декаметоксин, який характеризувався високим рівнем протимікробної активності у відношенні переважної більшості виділених штамів мікроорганізмів. Середня МБцК декаметоксину становила близько 3 мкг/мл, для акінетобактерій – $22,1 \pm 2,2$ мкг/мл. Лише для псевдомонад цей показник перевищував 100 мкг/мл.

Важливою з практичної точки зору є виявлена у декаметоксину здатність у суббактеріостатичних концентраціях підвищувати чутливість резистентних до

антибіотиків штамів ентерококів і неферментуючих грамнегативних бактерій до цефалоспоринів III покоління і антибіотиків карбапенемового ряду. Мінімальна бактерицидна концентрація цефтриаксону для резистентних до нього штамів неферментуючих бактерій в присутності суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину зменшувалась у 4–8 разів. У резистентних до препарату штамів ентерококів чутливість зростала у 32 рази. Чутливість акінетобактерій до імipенему в присутності декаметоксину зростала у 6 разів, псевдомонад і стенотрофомонад – у 4 рази, а ентерококів – у 2,5 рази.

Існує позитивний досвід застосування декасану для профілактики ВАП шляхом санаційних фібробронхоскопій [166]. Препарат випускається у небулах і може застосовуватись інгаляційно. З урахуванням встановленого ефекту можна очікувати високої ефективності такого застосування препарату на тлі системної антибіотикопрофілактики, яку у ВРІТ найчастіше проводять препаратами цефалоспоринового та карбапенемового ряду.

В більшості природних біоценозів бактерії існують у вигляді багатоклітинних угруповань, об'єднаних у біоплівку. Особливості функціонування мікроорганізмів у складі біоплівки істотно відрізняється від закономірностей існування у планктонній формі [87, 92]. Дослідження бактеріального плівкоутворення найчастіше проводиться у стаціонарній системі на покривних скельцях. Однак, високі гідрофільні властивості скла, у порівнянні з гідрофобною поверхнею полімерних виробів медичного призначення, диктують свої умови процесам бактеріального плівкоутворення [99, 110]. Задачею нашого дослідження було вивчити швидкість плівкоутворення на поверхні поліхлорвінілових ЕІТ неферментуючими грамнегативними бактеріями, виділеними з поверхонь використаних дихальних трубок.

В результаті проведених експериментів було встановлено, що процес плівкоутворення неферментуючими грамнегативними бактеріями на поверхні ЕІТ розпочинається з чисельних центрів, характеризується певною стадійністю і завершується утворенням сітчастої структури, що вкриває всю поверхню зразка. Привернуло увагу те, що динаміка формування біоплівок неферментуючими

грамнегативними бактеріями нагадує криві росту планктонних форм мікробних популяцій з повторенням фаз розвитку періодичної культури бактерій: лаг-фази, експоненціальної, стаціонарної, відмирання. Лише часові масштаби реалізації цих фаз є значно більшими, ніж у планктонній культурі. У псевдомонад найбільше зростання кількості клітин у біоплівці спостерігається протягом другої доби перебування зразка ЕІТ у культурі бактерій. У акінетобактерій період найбільшого накопичення клітин у біоплівці приходить на третю добу. Завершувався процес бактеріального плівкоутворення неферментуючими грамнегативними мікроорганізмами у кінці четвертої доби.

Правомірно вважати, що найкращі умови для виживання у плівкових форм бактерій створюються у зрілій біоплівці і саме у ній бактерії є найменш вразливими до зовнішніх хімічних впливів. Тому чутливість до антисептиків плівкових форм мікроорганізмів нами досліджено на зразках ЕІТ з 4-х добовою плівкою.

Плівкові форми неферментуючих бактерій характеризуються підвищеним рівнем резистентності до антисептиків з числа четвертинних амонієвих похідних, похідних бігуанідину, йодвмісних препаратів та окислювачів. Мінімальні бактерицидні концентрації декаметоксину, хлоргексидину, повідон-йоду для плівкових форм псевдомонад і акінетобактерій у 2,4–3,6 рази вищі, ніж для планктонних форм тих же штамів мікроорганізмів. Так, середня МБЦК декаметоксину для планктонної форми псевдомонад за нашими даними становила $116,5 \pm 10,2$ мкг/мл. Знищення псевдомонад, інкорпорованих у біоплівку, досягалось при концентрації декаметоксину $357,7 \pm 30,6$ мкг/мл.

Найбільшою була різниця між середніми МБЦК для планктонних і плівкових форм неферментуючих бактерій у перекису водню. Стійкість плівкових форм псевдомонад до перекису водню, у порівнянні з планктонними, зростала у 12,8 разів. Середня МБЦК перекису водню для планктонної форми акінетобактерій дорівнювала $268,7 \pm 31,7$ мкг/мл. Для плівкової форми цього роду мікроорганізмів середня МБЦК була у 14,2 разів більшою і сягала $3820,1 \pm 137,3$ мкг/мл.

Показник мінімальної бактерицидної концентрації досить об'єктивно відображає рівень чутливості мікроорганізмів до антисептичної речовини, однак не може бути екстрапольованим на оцінку ефективності дії антисептиків в практичних умовах, оскільки робочі розчини антисептиків можуть мати значно вищі концентрації. Розчин перекису водню найменшої концентрації, що наявний у аптечній мережі, містить 30000 мкг/мл діючої речовини. Являє значний інтерес вплив на плівкові форми неферментуючих бактерій робочих розчинів антисептиків.

Нами визначено ефективні експозиції знезаражуючої дії декасану, горостену, 0,1% розчину декаметоксину, 0,05% розчину біглюконату хлоргексидину, 3% розчину перекису водню для планктонних і плівкових форм псевдомонад і акінетобактерій. Результати дослідження знезаражуючого впливу готових лікарських форм антисептичних засобів на плівкові форми бактерій показали, що антисептик декасан виявився неефективним у знезаражуванні фрагментів ЕІТ, вкритих біоплівками неферментуючих бактерій. Навіть при зануренні зразків, вкритих біоплівками неферментуючих бактерій, у декасан на добу знезаражуючого ефекту не досягалось. Водночас для знищення планктонної форми акінетобактерій було достатньо 120 хв. експозиції дії, планктонна форма псевдомонад гинула при дії антисептика протягом 240 хв.

Шляхом занурення зразків ЕІТ, вкритих біоплівкою неферментуючих бактерій у антисептик горостен чи 0,05% водний розчин біглюконату хлоргексидину повне знезараження досягалось при експозиції дії від 2,5 до 4 годин. Повне позбавлення життєздатності клітин неферментуючих бактерій у складі біоплівок 0,1% водним розчином декаметоксину і 3 % розчином перекису водню досягали при експозиції дії 30 хвилин. Планктонні форми бактерій у цих антисептиках виживали не довше 15 хв.

Таким чином, встановлено високий рівень витривалості неферментуючих бактерій у складі біоплівок, що вкривають поверхню ЕІТ в процесі використання, до дії антисептиків. Для позбавлення цих мікроорганізмів, інкорпорованих у біоплівку, життєздатності необхідне застосування високих

концентрацій антисептиків при великій експозиції дії, що у практичних умовах здійснити неможливо. Тим не менше зрошення поверхні ЕІТ розчинами декаметоксину може забезпечити профілактичний ефект, оскільки впливає на швидкість утворення біоплівки на поверхні ЕІТ.

Крива кількості життєздатних клітин псевдомонад у біоплівці, утвореній в присутності суббактеріостатичної концентрації декаметоксину (10 мкг/мл), повторювала криву кількості мікроорганізмів у біоплівці, утвореній в звичайному поживному середовищі, проте більш ніж на один порядок на нижчому рівні. Так, якщо в звичайних умовах після 6-ти годинної експозиції з дезінтегрованої ультразвуком біоплівки виділялось $\lg 5,08$ КУО/мл псевдомонад, то з біоплівки, утвореної в присутності суббактеріостатичної дози декаметоксину, лише $\lg 4,03$ КУО/мл. На піку кількості життєздатних клітин у біоплівці після 4-х діб культивування у звичайному поживному середовищі виявляли $\lg 8,95$ КУО/мл псевдомонад. В присутності антисептика досягнута максимальна кількість життєздатних клітин у біоплівці не перевищувала $\lg 7,81$ КУО/мл. До того ж максимальна кількість життєздатних клітин у біоплівці в звичайних умовах досягалась після чотирьох діб культивування, а в присутності антисептика – по завершенні п'ятої доби. Судячи по нахилу кривої після п'ятої доби культивування більш стрімко в присутності суббактеріостатичної дози антисептика відбуваються процеси відмирання псевдомонад.

Таким чином, навіть суббактеріостатичні для паличок синьо-зеленого гною концентрації декаметоксину здатні впливати на процес плівкоутворення, зменшуючи кількість життєздатних клітин в їх структурі.

Відомий досвід застосування лакових покриттів з полігексаметиленгуанідіном для захисту поверхонь від біологічного обростання у технічних системах [109]. Запропонована адгезивна композиція на основі декаметоксину для захисту поверхні уретральних катетерів [137]. Результатами проведених нами експериментальних досліджень підтверджено можливість протимікробного захисту поверхні ЕІТ адгезивною антисептичною композицією наступного складу: декаметоксину – 0,5 г; полівінілбутирально – 4,0 г; спирту

етилового 96° - до 100,0 мл. Її нанесення на поверхню трубок супроводжується утворенням антисептичної плівки, яка протягом тривалого часу виділяє у оточуюче середовище декаметоксин і запобігає адгезії мікроорганізмів.

В процесі проведення досліджень вивчена можливість використання для створення протимікробного покриття ЕІТ інших адгезивних полімерів (полівінілпіролідону, карбоксиметилкрохмалю, оксиетилцелюлози, полівінілацетатної дисперсії). Однак, встановлено, що в умовах контакту з рідинами гідрофільні полімерні антисептичні плівки на поверхні ЕІТ швидше втрачають протимікробні властивості, що впливає на ефективність протимікробного захисту.

Крім того, в експериментальних умовах доведено, що на поверхні трубок з запропонованим антисептичним покриттям процеси утворення біоплівки псевдомонадами перебігають відтерміновано і уповільнено. Використання ЕІТ з антимікробним покриттям в клінічних умовах для тривалої ШВЛ дозволить відстрочити контамінацію тканин респіраторного тракту мікрофлорою, зменшити мікробне навантаження на паренхіму легень і тим зменшити ризики виникнення ВАП.

Таким чином, результатами наших досліджень встановлено видовий склад мікроорганізмів, що колонізують поверхню ЕІТ пацієнтів ВРІТ в процесі ШВЛ, з'ясовані закономірності утворення біоплівки неферментуючими грамнегативними бактеріями на поверхні поліхлорвінілових ЕІТ, показана висока стійкість цих бактерій у складі біоплівки до антисептиків. Одержані дані щодо потенціуючого впливу декаметоксину на активність антибіотиків резерву та його впливу на процеси бактеріального плівкоутворення є обґрунтуванням доцільності застосування декаметоксину у комплексі заходів профілактики ВАП.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення наукового завдання щодо вивчення закономірностей колонізації умовно-патогенними мікроорганізмами ендотрахеальних інтубаційних трубок, що використовують в процесі штучної вентиляції легень, для підвищення ефективності профілактики вентилятор-асоційованих пневмоній у хворих відділень реанімації та інтенсивної терапії.

1. У колонізації та плівкоутворенні на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок приймають участь умовно-патогенні мікроорганізми, серед яких висока питома вага належить неферментуючим грамнегативним бактеріям (23,2%), ентеробактеріям (19,5%), стафілококам (17,5%) та ентерококам (14,4%). У пацієнтів неонатального періоду у видовому спектрі виділених бактерій переважають грампозитивні коки родів *Staphylococcus* (35,3%), *Enterococcus* (16,5%). У дорослих пацієнтів домінують грам негативні неферментуючі бактерії (37,6%), серед яких переважають представники роду *Acinetobacter* (26,6%).

2. Виділені штами мікроорганізмів володіють полірезистентністю до більшості сучасних антибіотичних лікарських засобів. До антибіотика резерву карбапенемового ряду – меропенему, що найчастіше використовують у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії, виявляли чутливість лише 18,2% виділених штамів акінетобактерій, 7,1% штамів ентерококів, 5,9% штамів стафілококів. До цефалоспорину третього покоління цефтриаксону були чутливими 9,9% виділених штамів *Acinetobacter* spp.

3. Штами мікроорганізмів, що колонізують ендотрахеальні інтубаційні трубки, зберігають високий рівень чутливості до катіонактивних антисептиків октенідину і декаметоксину. В присутності суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину чутливість ентерококів до антибіотика карбапенемового ряду іміпенему зростає у 2,5 рази ($p < 0,001$), у акінетобактерій у – 6 разів ($p < 0,001$); до

цефтриаксону у ентерококів чутливість підвищується в 32 рази ($p < 0,001$), а у акінетобактерій – у 8 разів ($p < 0,001$).

4. На поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок утворення біоплівки неферментуючими грамнегативними бактеріями найбільш інтенсивно відбувається на 2–3 добі перебування зразка у культурі мікроорганізмів в рідкому поживному середовищі і завершується через 96 годин. Стійкість плівкових форм псевдомонад до дії перекису водню зростала у 12,8 разів ($p < 0,001$) у порівнянні з планктонною формою, у акінетобактерій – у 14,2 разів ($p < 0,001$). Мінімальні бактерицидні концентрації декаметоксину, хлоргексидину, повідон-йоду для плівкових форм псевдомонад і акінетобактерій у 2,4–3,6 рази більші ($p < 0,001$), ніж для планктонних форм тих же штамів мікроорганізмів. Декаметоксин у суббактеріостатичній концентрації гальмує процес плівкоутворення псевдомонадами на поверхні полімерних виробів медичного призначення.

5. На поверхні трубок з антисептичним адгезивним покриттям на основі декаметоксину і гідрофобного полімеру полівінілбутиральної процесу утворення біоплівки псевдомонадами проходять відтерміновано і уповільнено. Використання ендотрахеальних інтубаційних трубок з антимікробним покриттям для тривалої штучної вентиляції легень дозволяє відстрочити контамінацію тканин респіраторного тракту мікрофлорою, зменшити мікробне навантаження на паренхіму легень та ризики виникнення вентилятор-асоційованих пневмоній.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Ендотрахеальні інтубаційні трубки в процесі штучної вентиляції легень важкохворих пацієнтів колонізуються високо резистентними до антибіотиків штамами мікроорганізмів з утворенням біоплівки, у складі яких бактерії характеризуються підвищеною стійкістю до дії антисептиків. Попередити процес бактеріального плівкоутворення рекомендується шляхом нанесення на поверхню ендотрахеальних інтубаційних трубок адгезивної антисептичної композиції наступного складу: декаметоксину – 0,5 г; полівінілбутиралу – 4,0 г; спирту етилового 96°- до 100,0 мл. Композицію наносять на поверхню трубок перед інтубацією, висушують для утворення антисептичної плівки, яка протягом тривалого часу виділяє декаметоксин у оточуюче середовище і запобігає адгезії мікроорганізмів.

Лікарський антисептичний препарат декаметоксин виявляє високий рівень протимікробної активності у відношенні бактерій, що колонізують ендотрахеальні інтубаційні трубки і приймають участь у розвитку вентилятор-асоційованих пневмоній. Препарат декаметоксин посилює ефективність антибіотиків карбапенемового та цефалоспоринового рядів, які найчастіше використовують у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії з метою профілактики вентилятор-асоційованих пневмоній. Інгаляційне застосування лікарського антисептичного препарату декасан рекомендовано для введення у комплекс засобів профілактики та лікування вентилятор-асоційованих пневмоній.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Усенко Л. В. Профилактика и антибактериальная терапия инфекций, ассоциированных длительной медицинской инвазией / Л. В. Усенко, А. А. Криштафор. – Днепропетровск, 2006. – 28 с.
2. Effect of statin therapy of mortality in patients wsth ventilator-associated pneumonia: a randomized clinical trial / L. Papazian, A. Roch, P. E. Charles [et al.] // JAMA. – 2013. – Vol. 310 (16). – P. 1692-1700.
3. Craven D. E. Epidemiology of nosocomial pneumonia. New perspectives on an old disease / D. E. Craven, K. A. Steger // Chest. - 1995. – Vol.108, № 2 – P. 1-16.
4. Ventilator-associatedpneumoniacausedbypotentiallydrag-resistantbacteria / J. L. Troullet, J. Chaster, A. Vuagnat [etal.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1998. – Vol. 157, № 2. – P. 531-539.
5. Нозокомиальная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. Пособие для врачей / А. Г. Чучалин, А. И. Синопальников, Л. С. Страчунский [и др.] // Пульмонология. – 2005. - № 3. – С. 13-36.
6. Онищенко Г. Г. О состоянии заболеваемости внутрибольничными инфекционными болезнями/ Г. Г. Онищенко // Стерилизация и госпитальные инфекции. - 2006. - № 1. - С. 5-7.
7. Chastre J. Ventilator-associated pneumonia / J. Chaster, J. Y. Fagon // Am. J. Respir. Crit. CareMed. – 2002.-Vol. 165, № 7. – P. 867-903.
8. Белобородов В. Б. Проблемы антибактериальной терапии тяжелых инфекций на примере нозокомиальной пневмонии, связанной с проведением искусственной вентиляции легких и сепсиса / В. Б. Белобородов // Болезни дыхательных путей. – 2012. - № 6. – С. 289-293.
9. Факторы риска, микробный спектр и эффективность антибактериальной терапии при лечении вентилятор-ассоциированной пневмонии у пациентов с инсультами / А. И. Грицан, Н. Ю. Довбыш, А. А. Газенкамф [и др.] // Вестник

анестезиологии и реаниматологии. – 2014. - № 4. – С. 18-29.

10. Early versus late enteral feeding of mechanically ventilated patients: results of a clinical trial / E.H. Ibrahim, L. Mehringer, D. Prentice [et al.] // J. Parenter. Enteral. Nutr. – 2002. – Vol. 26, № 3. - P. 174-181.

11. Interventions to prevent aspiration pneumonia in older adults: a systematic review / M. B. Loeb, M. Becker, A. Eady, C. Walker-Dilks // J. Am GeriatrSoc.. – 2003.- Vol. 51, № 7. – P. 1018-1022.

12. Белобородов В. Б. Практические рекомендации по диагностике и лечению нозокомиальной пневмонии: что нового? / В. Б. Белобородов // Инфекции и антимикробная терапия. – 2005. - Т. 7, № 2. - С. 60-66.

13. Penetration of antibiotics through Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis biofilms / R. Singh, P. Ray, A. Das [et al.] // J. Antimicrob Chemother. – 2010. - № 65. – P. 1955-1958.

14. Афиногенова Л. Г. Микробные биопленки ран: состояние вопроса / Л. Г. Афиногенова, Е. Н. Даровская // Травматология и ортопедия России. – 2011. - №3 (61). – С. 119-125.

15. Тодосійчук Т. С. Підвищення стійкості мікробних патогенів як фактор розробки нових антисептиків / Т. С. Тодосійчук, Т. І. Стрелець, С. В. Конопацька // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2011. - № 3. – С. 90-97.

16. Біоплівка як особлива форма організації бактерій та її роль в інфекційних процесах / О. І. Сідашенко, О. С. Воронкова, О. А. Сірокваша [та ін.] // Вісник проблем біології та медицини. – 2013. – Т. 2, № 3(103). – С. 36-40.

17. Демиховская Е. В. Беседы с микробиологом / Е. В. Демиховская // Болезни и антибиотики. – 2011. - № 2 (05). – С. 13-19.

18. Совершенствование эпидемиологического надзора и контроль за нозокомиальными пневмониями, связанными с искусственной вентиляцией легких / А. А. Голубкова, Е. И. Сисин, Ю. А. Богушевич [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2011. - № 4. – С. 14-18.

19. Сотников А. В. Нозокомиальные пневмонии в отделении реанимации интенсивной терапии у детей / А. В. Сотников, А. В. Попа, А. И. Салтанов //

Вестник интенсивной терапии. – 2011. - № 4. – С. 7-13.

20. Чучалин А. Г. Нозокомиальная пневмония у взрослых (Национальные рекомендации) / А. Г.Чучалин, Б. Р. Гельфанд // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 100 – 142.

21. Анестезиология и интенсивная терапия: практическое руководство / С. Н. Авдеев [и др.]; под ред. Б. Р. Гельфанд. – 2-е изд. – М. : Литература, 2010. – 640 с.

22. Нозокомиальная пневмония в танатогенезе пациентов с тяжелой внелегочной патологией / И. И. Данцинг, И. М. Скипский, Н. Ф. Левин // Пульмонология. – 2011. - № 6. – С. 58-61.

23. Эпидемиологические аспекты пневмонии, сопровождающихся острой дыхательной недостаточностью, у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии / Ю. С. Полушин, К. Н. Храпов, Д. П. Мешаков, Ю. В. Тимчурина // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2011. - № 4 . – С. 30-36.

24. Яковлев С. В. Госпитальные пневмонии вопросы диагностики и антибактериальной терапии [Электронный ресурс] / С.В. Яковлев // Consiliummedicum. – 2000. - № 2. – С. 400-404. - Режим доступа к журналу : http://con-med.ru/magazines/consilium_medicum/214489/ .

25. Craven D. E. Epidemiology of ventilator-associated pneumonia / D. E. Craven // Chest 2000 . – Vol. 117, № 4 (2). – P.186-187.

26. Outcome and attributable cost of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit patients in a suburban medical center / D. K. Warren, S. J. Shukla, M. A. Olsen [et al.] // Crit. Care Med. – 2003. - № 31. - P. 1312-1317.

27. The OPTAMA programme: utilizing MYSTIC (2002) to predict critical pharmacodynamic target attainment against nosocomial pathogens in Europe / R.G. Masterton , J. L. Kuti , P. J. Turner [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. — 2005. —№ 55. — P. 71-77.

28. Hospital-acquired pneumonia Guideline Committee of American Thoracic

Society and Infection Disease Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired? Ventilator - associated and healthcare-associated pneumonia [Электронный ресурс] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2005. - Vol. 171. – P. 388-416. - Режим доступа до журналу : <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=206558>.

29. Excess ICU mortality attributable to ventilator-associated pneumonia: The role of early vs late onset / Valles J., Pobo A., Garcia-Esquirol O. [et al.] // Intensive Care Med. - 2007. - № 33. – P. 1363-1368.

30. Интенсивная терапия: нац. руководство / [Федерация анестезиологов и реаниматологов, Рос. Ассоциация специалистов по хирург. инфекциям]; под ред. Б. Р. Гельфанд, А. И. Салтанов. – М.: ГЭОТФР-Медиа, 2009. – 784 с.

31. Нозокомиальная пневмония в хирургии : методические рекомендации / Гельфанд Б.Р., Белоцерковский Б.З., Проценко Д.Н. [и др.] // Инфекции и антимикробная терапия. - 2003. – Т. 5, № 5-6. - С. 124-129.

32. Ершов А. Л. Вентилятор-ассоциированная пневмония у взрослых / А. Л. Ершов. – Петрозаводск : ООО «Издательство «ИнтелТек», 2006. – 167 с.

33. Глумчер Ф. С. Аспираційна пневмонія / Ф. С. Глумчер, С. О. Дубров // Внутренняя медицина. – 2007. - Т. 6, №6. – С. 25-28.

34. Белобородов В. Б. Вентилятор-ассоциированная пневмония: диагностика, профилактика и лечение [Электронный ресурс] / В. Б. Белобородов // Consilium medicum. – 2000. – № 10. – Режим доступа к журналу : http://con-med.ru/magazines/consilium_medicum-10-2000/ventilyator_assotsiirovannaya_pnevmoniya_diagnostika_profilaktika_i_lechenie/.

35. Dries D. J. Protocol-driven ventilator weaning reduces use of mechanical ventilation, rate of early reintubation, and ventilator-associated pneumonia / D. J. Dries, M. D. McGonigal , M. S. Malian // J. Trauma. - 2004. -Vol. 56, № 5. - P. 943-951.

36. Donald E. Preventing ventilator-associated pneumonia in adults: sowing seeds of change / E. Donald, D. E. Craven // Chest. – 2006. - №130. – P. 251-260.

37. Характеристика микрофлоры, выделенной при искусственной вентиляции легких / М. Д. Кузьмин, О. Л. Картанова, А. Р. Хайрулин // Микробиология. – 2013. - № 4. – С. 69-72.
38. Ventilator-associated pneumonia: incidence, risk factors, outcome, and microbiology / M. Pawar, Y. Mehta, P. Khurana [et al.] // J. CardiothoracVasc. Anesth. – 2003. - № 17. – P. 22-28.
39. Klompas M. Does this patient have ventilator-associated pneumonia? [Электронныйресурс] / M. Klompas // JAMA. - 2007. - №297 (14). – P. 1583-1593.
– Режим доступа до журналу :
<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=206558>.
40. Яркаяева Ф. Ф. Методические рекомендации об использовании бактериальных дыхательных фильтров в профилактике инфицирования больных при ИВЛ // Письмо Минздрава РТ. - 2007. - № 31-3687. – С. 3-25.
41. Видовой состав и биологические свойства возбудителей нозокомиальных пневмоний, выделенных в стационарах хирургического профиля Махачкалы / С. М. Омарова, З. М.-К. Муталипова, З. М. Нурмагомедова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. - № 12. – С. 38-40.
42. Гадлин Е. А. Проблемы стерильности интубационных трубок при повторном использовании - результаты пилотного клинико-микробиологического исследования / Е. А. Гадлин, М. Л. Ромашова, В. Н. Фоменко // Новые медицинские технологии. - 2005. - N 3. - С. 95-96.
43. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prolongs intensive care unit length of stay in ventilator-associated pneumonia, despite initially appropriate antibiotic therapy/ A. F. Shorr, A. Combes, M. H. Kollef [et al.] // Crit. Care Med. — 2006. —№ 34. — P.700-706.
44. The systemic inflammatory response in the development of ventilator-associated pneumonia / Marc J. M. Bonten, Albert H. M. Froon, Carlo A. Gaillard [et al.] // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 1997. – Vol. 156. – P. 1105-1108.
45. Профилактика вентилятор-ассоциированной пневмонии после

операции реваскуляризации миокарда [Электронный ресурс] / Е. С. Никитин, М. М. Жадин, Г. В. Лобачева [и др.] // Лечащий врач. – 2004. - № 8. – Режим доступа к журналу : <http://www.lvrach.ru/2004/08/4531643/> .

46. Проценко Д. Н. Значение цитокиногенеза в развитии вентилятор-ассоциированного повреждения легких / Д. Н. Проценко, А. И. Ярошецкий, Б. Р. Гельфанд // Вестник интенсивной терапии. - 2005. - № 3. - С. 57-58.

47. Байгозина Е. А. Цитокиновый профиль у больных с вентилятор-ассоциированной пневмонией / Е. А. Байгозина, В. И. Совалкин, Т. И. Долгих // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 35-39.

48. Ошуев С. В. Ранняя диагностика и тактика респираторной терапии у пациентов с пневмонией, связанной с искусственной вентиляцией легких / С. В. Ошуев, В. Н. Кохно // Анестезиология и реаниматология.- 2010. - № 2. - С. 50-53.

49. Новиков Ю. К. Госпитальные пневмонии / Ю. К. Новиков // Русский медицинский журнал. – 2000. – Т. 8. - № 12. – С. 501–504.

50. Возможности использования микробиологических данных при эпидемиологическом анализе внутрибольничных пневмоний / Д. Д. Меньшиков, Е. Б. Лазарева, А. Г. Дорфман [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 6. – С. 34-37.

51. Мизиев И. А. Нозокомиальная пневмония у хирургических больных / И. А. Мизиев, Л. Н. Зекореева // Анналы хирургии. – 2008. – № 5. – С. 42-46.

52. Структура бактериальных возбудителей внебольничной пневмонии в многопрофильных стационарах Смоленска / С. А. Рачина, Р. С. Козлов, Е. П. Шаль [и др.] // Пульмонология. – 2011. - №1. – С. 5-18.

53. Global prospective epidemiologic and surveillance study of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa* / M. H. Kolef, J. Chaster, J. Y. Fagon [et al.] // Crit Care Med. – 2014. – Vol. 42, № 10. – P. 2178-2187.

54. Ventilator-associated pneumonia after heart surgery : a prospective analysis and the value of surveillance / E. Bouza, A. Perez, P. Munoz [et al.] // Crit Care Med. – 2003. - № 31. - P. 1964-1970.

55. McQuillen D.P. Ventilator-associated pneumonia: emerging principles of management / D.P. McQuillen, R.A. Duncan, D.E. Craven // *Infect Med.* – 2005. – № 22 (3). – P. 104–118.
56. Hunter J. Diagnosis, management and prevention of ventilator-associated pneumonia in the UK / J. Hunter, S. Annadurai, M. Rothwell // *Eur J Anaesthesiol.* - 2007. – Vol. 24 (11). – P. 971-977.
57. Ершов А. Л. Этиологические и патогенетические особенности нозокомиальной пневмонии, связанной с ИВЛ (НП ИВЛ) / А. Л. Ершов // *Анестезиология и реаниматология.* - 2000. - № 3. - С. 69–73.
58. Меньшикова Е. Д. Микробная этиология пневмоний у больных реанимационного профиля : автореф. дис. на получение науч. степени кандидата мед. наук : спец. 03.00.07. «Микробиология» / Е. Д. Меньшикова. – Москва, 2008. – 115 с.
59. Мардганиева Э. А. Интенсивная терапия вентилятор-ассоциированной пневмонии у детей / Э. А. Мардганиева, П. И. Миронов // *Анестезиология и реаниматология.* – 2004. - № 1. – С. 52-54.
60. Миронов П. И. Вентилятор-ассоциированная пневмония у детей / П. И. Миронов, Э. А. Мардганиева // *Вестник интенсивной терапии.* – 2004. – № 2. – С. 23–29.
61. Хамин И. Г. ИВЛ-ассоциированные пневмонии у детей (факторы риска, этиология, исходы) / И. Г. Хамин, Ф. К. Манеров, Т. Н. Борщикова // *Сибирский консилиум.* - 2004. - № 3. - С. 16-18.
62. Особенности этиологической структуры и фенотипа резистентности возбудителей к антибиотикам вентилятор-ассоциированной пневмонии развившейся на фоне абдоминального сепсиса [Электронный ресурс] / В.А. Демещенко, В.А. Багин, С.М. Розанова [и др.] // *Журнал интенсивная терапия.* – 2008. - № 2. – С. 3-9. – Режим доступа до журнала : <http://www.icjcorp.ru/2008-02-03.html>.
63. Ложкін В. В. Оптимізація антибактеріальної терапії нозокоміальної пневмонії у хворих, які знаходяться на штучній вентиляції легень : автореф. дис.

на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.27. «Пульмонологія» / В. А. Ложкін. – Київ, 2010. – 28с.

64. Incidence and risk factors for ventilator-associated pneumonia in 4 multidisciplinary intensive care units in athens, Greece / E. Apostolopoulou, P. Bakakos, T. Katostaras // *Respiratory care*. – 2003. Vol. 48, № 7. – P. 681-688.

65. Alp E. Ventilator associated pneumonia and infection control [Електронний ресурс] / E. Alp, A. Voss // *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. – 2006. - № 5(7). – P. 5-7. – Режим доступу до журналу : <http://www.ann-clinmicrob.com/content/5/1/7>.

66. Ventilator-associated pneumonia in an adult clinical-surgical intensive care unit of a Brazilian university hospital : incidence, risk factors, etiology, and antibiotic resistance / L. A. Rocha, C. A. P. Vilela, R. C. Cezario [et al.] // *Braz J infect dis*. – 2008. – Vol. 12, № 1. – P. 14-26.

67. Rice L. B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE / L. B. Rice // *J. Infect. Dis.* — 2009. — № 197. — P. 1079-1081.

68. IDSA Report. Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America // *Clin. Infect. Dis.* — 2009. — № 48. — P. 1-12.

69. Nosokomiale Ausbrüche multiresistenter *Klebsiella pneumoniae*-Stämme auf Intensivstationen / S. Burak, S. Engelhart, M. Exner [et al.] // *Chemotherapie Journal*. — 2006. — № 15. — P. 112-118.

70. Occurrence and characterization of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000–2004) / L. M. Deshpande, R. N. Jones, T. R. Fritsche [et al.] // *Microb. Drug. Resist.* - 2006. - № 12. - P. 223-230.

71. Etiology and cytokine expression in patients requiring mechanical ventilation due to severe community-acquired pneumonia / C. L. Wu, M. C. Chan, G. C. Chang // *J. Formos. Med. Assoc.* – 2006. – Vol. 105. – P. 49-55.

72. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* harboring *Klebsiella pneumoniae*

carbapenemase b-lactamases associated with long-term care facilities / C. Urban, P. A. Bradford, M. Tuckman [et al.] // Clin. Infect. Dis. - 2008. - № 46. - P. 127-130.

73. European NDM-1 Survey Participants: New Delhi metallo-beta-lactamase 1-producing Enterobacteriaceae: emergence and response in Europe / M. J. Struelens, D. L. Monnet, A. P. Magiorakos [et al.] // Euro Surveill. — 2010. — № 15 (46). - P. 1971-1976.

74. Микробный пейзаж и антибиотикорезистентность госпитальной флоры реанимационных отделений г. Екатеринбурга : информационное письмо / Я. Б. Бейкин, В. П. Шилова, В. А. Руднов [и др.]. – Екатеринбург, 2004. - 20 с.

75. Шагинян И. А. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций :клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности / И. А. Шиганян, М. Ю. Чернуха // Болезни и возбудители. – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 271-285.

76. Илюкевич Г. В. Синегнойная инфекция: в новый век со старой проблемой // Медицинские новости. – 2004. - №12. – С. 3-8.

77. Paterson D. L. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species / D. L. Paterson // Clin. Infect. Dis. – 2006. - № 43 (2). - P. 43-48.

78. Байгозина Е. А. Анализ клинических особенностей и исхода вентилятор-ассоциированной пневмонии, связанной с *Pseudomonas Aeruginosa*, в отделениях реанимации и интенсивной терапии / Е. А. Байгозина, В. И. Совалкин, В. Н. Лукач // Анестезиология и реаниматология. – 2009. - № 2. – С. 62-64.

79. Чернявский В. И. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии нозокомиальных инфекций и проблемы антибиотикорезистентности [Электронный ресурс] / В. И. Чернявский, С. В. Бирюкова, Е. И. Гришина // Annals of Mechnikov Institute. - 2010. - № 4. -С. 5-13. – Режим доступа к журналу : www.imiamn.org.ua/journal.htm.

80. Roy V. Cross species quorum quenching using a native AI-2 processing enzyme / V. Roy // ACS Chem. Biol. – 2010. – Vol. 5, №2. – P. 223–232.

81. Solh A. E. Persistent infection with *Pseudomonas aeruginosa* in ventilator-associated Pneumonia / A .E. Solh // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2008. – Vol. 178 (5). – P. 513-519.
82. Байгозина Е. А. Анализ клинических особенностей и исхода нозокомиальной пневмонии, вызванной синегнойной палочкой / Е. А. Байгозина // Клиническая медицина. – 2009. - № 6. – С. 57-59.
83. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia : epidemiological and clinical finding / J. Garnacbo-Montero, C. Ortiz-Leyba, E. Fernandes-Hinojosa [et al.] // Int. care med. – 2005. - № 31. – P. 649-655.
84. Перцова Т. А. Клинически значимые возбудители инфекций дыхательных путей / Т.А . Перцова // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. - 2007. – № 2. – С. 3-12.
85. Проблемные госпитальные микроорганизмы. *Acinetobacter* spp. – возбудитель или свидетель? / Б. З. Белоцерковский, Е. Б. Гельфанд, Т. В. Попов [и др.] // Инфекции в хирургии. – 2008. - № 1. – С. 18-25.
86. Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection / M. Del Mar Tomas, M. Cartelle, S. Pertega [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. - 2005. - №11. - P.540-546.
87. Costerton J. W. Biofilm in implant infections: its production and regulation / J. W. Costerton, L. Montanaro, C. R. Aciola // Int. J. Artif. Organs. - 2005. - № 28. - P. 1062-1068.
88. Hall-Stoodley L. Evolving concepts in biofilm infections / L. Hall-Stoodley, P. Stoodley // Cell Microbiol. – 2009. –Vol. 11, №7. – P. 1034-1043.
89. Балко О. Б. Вплив температурного фактора на особливості формування біоплівки бактеріями виду *Pseudomonas aeruginosa* / О. Б. Балко, Л. В. Авдєєва // Медицина Сьогодні і Завтра. – 2009. - № 3-4. – С.23-27.
90. Балко О. В. Структурні компоненти і особливості організації біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* / О. Б. Балко, Л. В. Авдєєва // Мікробіологічний журнал. – 2010. – Т. 72, № 4. – С. 28-32.

91. Комплексный подход к изучению биопленок микроорганизмов методом атомно-силовой микроскопии / П. С. Ерохин, О. С. Коннов, Н. П. Коннов [и др.] // Известия Саратовского университета. – 2012. – Т. 12, № 1. – С. 42-46.
92. Балко О. Этапи біоплівкоутворення *Pseudomonasaeruginosa* / О. Балко, Л. Авдєєва, О. Балко // Ukrainian Food Journal. – 2013. – Vol. 2, № 1. – P. 23-26.
93. Туркутюков В. Б. Молекулярные особенности морфологии биопленок, формируемых штаммами неферментирующих грамотрицательных бактерий / В. Б. Туркутюков, Т. Д. Ибрагимова, Д. В. Фомин // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2013. - № 4. – С. 44-47.
94. Hassett D. J. *Pseudomonas aeruginosa* hypoxic or anaerobic biofilm infections within cystic fibrosis airways / D. J. Hassett // Trends. Microbiol. – 2009. – Vol. 17, № 3. – P. 130–138.
95. Bester E. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates / E. Bester // Appl. Environ. Microbiol. – 2010. – Vol. 76, N 4. – P. 1189-1197.
96. Гостев В. В. Бактериальные биопленки и инфекции / В. В. Гостев, С. В. Сидоренко // Журнал инфектологии. – 2010. – Т. 2, № 3. – С. 4-15.
97. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биоплёнок / Т. А. Смирнова, Л. В. Диденко, Р. Р. Азизбекян [и др.] // Микробиология. - 2010. – Т. 79, № 4. – С. 435-446.
98. Dietrich L. E. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa* / L. E. Dietrich // Mol. Microbiol. – 2006. – Vol. 61, N 5. – P. 1308-1321.
99. Dickschat J. S. Quorum sensing and bacterial biofilms / J.S. Dickschat // Nat. Produc Reports. – 2010. – Vol. 27. – P. 343-369.
100. Wolcott R. D. Chronic wounds and the medical biofilm paradigm / R. D. Wolcott // J. Wound Care. – 2010. – Vol. 19, N 2. – P. 45-50.
101. Weigel L. M. High-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*

isolates associated with a polymicrobial biofilm / L.M. Weigel // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2007. – Vol. 51, N 1. – P. 231-238.

102. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains with increased mutation frequency due to inactivation of the DNA oxidative repair system / L. F. Mandsberg, O. Ciofu, N. Kirkby [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* - 2009. - № 53. – P. 2483-2491.

103. Лікувально-профілактичні препарати бактеріофагів / Є. Воробей, О. Воронкова, О. Сірокваша [та ін.] // *Вісник Львівського університету.* – 2014. - № 64. – С. 52-66.

104. Lewis K. Persister cells/ K. Lewis // *Annu Rev Microbiol.* - 2010. - № 64. - P. 357-372.

105. Quorum sensing inhibitors increase the susceptibility of bacterial biofilms to antibiotics in vitro and in vivo / G. Brackman, P. Cos, L. Maes [et al.] // *Antimicrob Agents Chemother.* . – 2011. – № 55. – P. 2655-2661.

106. Kaplan J. B. Antibiotic-induced biofilm formation / J. B. Kaplan // *Int. J. Artif Organs.* - 2011. - № 34. - P. 737-751.

107. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий / И. В.Чеботарь, А. Н. Маянский, Е. Д. Кончакова [и др.] // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 51-58

108. Белобородова Н. В. Роль микробных сообществ или биоплёнок в кардиохирургии / Н. В. Белобородова, И. Т. Байрамов // *Антибиотики и химиотерапия.* – 2008. - № 53. – С. 11-12.

109. Доброхотский О. Н. Эпидемиологическое значение формирования биоплёнок в технических системах / О. Н. Доброхотский, Ю. Н. Хомяков, Т. И. Хомякова // *Здоровье, профилактика, долголетие.* – 2009. – № 1. – С. 78-80.

110. Коробов В. П. Анализ чувствительности процессов формирования биоплёнок *Staphylococcus epidermidis* 33 к некоторым факторам внешней среды / В. П. Коробов, Л. М. Лемкина, В. И. Монахов // *Вестник Пермского университета.* – 2010. – №1 (1). – С. 59-63.

111. Филатов, Н. Н. Профилактика гнойно-септических осложнений в

стационарах хирургического профиля. Методические рекомендации. / Н. Н. Филатов, А. С. Ермолов. - Москва, 1995. - 50 с.

112. Эпидемиология и профилактика септических инфекционных осложнений у больных отделений реанимации и интенсивной терапии хирургического профиля / Г. М. Климова, В. Г. Акимкин, Н. А. Карпун [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. - 2006. - Т. 3, № 28. – С. 33-37.

113. Мхоян Г. Г. Сравнительная оценка эмпирической антибактериальной терапии вентилятор-ассоциированной пневмонии / Г. Г. Мхоян, Г. Р. Акопян // Анестезиология и реаниматология. - 2006. - № 2. - С. 57-61.

114. Профилактика гнойно–септических осложнений в хирургии / В. В. Плечев, Е. Н. Мурысева, В. М. Тимербулатов, Д. Н. Лазарева. – М. : Триада-Х, 2003. – 320 с.

115. Сравнительный анализ этиологии и антибиотикорезистентности основных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ различного профиля города Екатеринбурга / С. М. Розанова, В. А. Руднов, Е. Ю. Перевалова [и др.] // КМАХ. - 2005. - № 7(4). - С. 410-418.

116. Imipenem, meropenem, or doripenem to treat patients with *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia / C.E. Luyt, A. Aubry, Q. Lu [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2014. – Vol. 58, № 3. – P. 1372-1380.

117. Этиология тяжелых госпитальных инфекций в отделениях реанимации и антибиотикорезистентность среди их возбудителей / С. В. Сидоренко, С. П. Резван, Л. В. Еремина [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2005. – Т. 50, № 2-3. – С. 33-41.

118. Белобородов В. Б. Проблема лечения тяжелых нозокомиальных инфекций [Электронный ресурс] / В.Б. Белобородов // Болезни и антибиотики. – 2009. – № 1(1). - С. 4-8. - Режим доступа к журналу : <http://www.mifua.com/archive/article/8511>.

119. Correlation between in vivo and in vitro efficacy of antimicrobial agents against foreign body infections / A. F. Wimer, R. Frei, Z. Rajacic [et al.] // J. Infect Dis. – 1990. – Vol. 162. – P.96-102.

120. Леушин К. Ю. Профилактика вентилятор-ассоциированной пневмонии у пациентов, находящихся на длительной ИВЛ / К. Ю. Леушин, Р. А. Багишев // Вестник интенсивной терапии. – 2011. - № 3. – С. 55-58.

121. Профилактика нозокомиальных пневмоний в послеоперационном периоде с использованием дыхательных фильтров при искусственной вентиляции легких / А. А. Еременко, Д. Е. Зорин, В. М. Егоров [и др.] // Общая реаниматология. – 2007. – Т. 3, № 3. – С. 95-99.

122. Совершенствование эпидемиологического надзора и контроль за нозокомиальными пневмониями, связанными с искусственной вентиляцией легких / А. А. Голубкова, Е. И. Сисин, Ю. А. Богушевич [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2011. - № 4. – С. 14-18.

123. Пролыгин О. Д. Усовершенствование путей профилактики вентилятор-ассоциированной пневмонии у детей с черепно-мозговой травмой : автореф. дис. на получение науч. степени кандидата мед. наук : спец. 14.01.20. «Анестезиология и реаниматология» / О. Д. Пролыгин. - Новосибирск, 2011. - 22 с.

124. Бачинская Е. Н. Современные методы микробиологической диагностики ИВЛ-ассоциированных пневмоний / Е. Н. Бачинская, Н. В. Белобородова, Т. Ю. Вострикова // Вестник интенсивной терапии. – 2005. – № 3. – С. 3-5.

125. Дубров С. О. Профілактика та лікування вентилятор-асоційованої пневмонії : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.30. «Анестезіологія та інтенсивна терапія» / С. О. Дубров. – Київ, 2006. – 25с.

126. Дубров С.А. Влияние методики забора мокроты у пациентов, находящихся на длительной искусственной вентиляции легких, на результат бактериологического исследования / С.А. Дубров, Ф.С. Глумчер, И.А. Долгова // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2006. - № 4. – С. 2-5.

127. Olson M. E. Silver-coated endotracheal tubes associated with reduced bacterial burden in the lungs of mechanically ventilated dogs / M. E. Olson, B. G.

Harmon B. G., M. H. Kollef // *Chest*. – 2002 - Vol. 121(3). – P. 863-870.

128. Endotracheal tubes coated with antiseptics decrease bacterial colonization of the ventilator circuits, lungs, and endotracheal tube / L. Berra, L. De Marchi, Z. X. Yu [et al.] // *Anesthesiology*. – 2004. – Vol. 100(6). – P. 1446-1456.

129. In vivo efficacy of silver-coated [silzone] infection-resistant polyester fabric against a biofilm-producing bacteria, *Staphylococcus epidermidis* / B. L. Illingworth, K. Twenden, R. F. Schroeder [et al.] // *J. Heart Valve Dis.* – 1998. - № 7. – P. 524-530.

130. Cook G. Direct confocal microscopy studies of the bacterial colonization in vitro of a silver-coated heart valve sewing cuff / G. Cook, J.W. Costerton, R.O. Darouiche// *Int. J. Antimicrob Agents*. – 2000. – Vol. 13(3). – P. 169-173.

131. Efficacy of antiseptic-impregnated central venous catheters in preventing catheter-related bloodstream infection / D. L. Veenstra, S. Saint, S. Saha // *JAMA*. – 1999. – № 281. – P. 261-267.

132. Prevention of catheter related bloodstream infection by silver iontophoretic central venous catheters: a randomized controlled trial / J. Bong, P. Kite, M. Wilco, M. McMahon // *J. Clin. Pathol.* – 2003.– Vol. 56. – P. 731-735.

133. Gaonkar T. A. Comparison of microbial adherence to antiseptic and antibiotic central venous catheters using a novel agar subcutaneous infection model/ T. A. Gaonkar, S. M. Modak // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2003. – Vol. 52, №3. – P. 389-396.

134. Effect of a second-generation venous catheter impregnated with chlorhexidine and silver sulfadiazine on central catheter-related infections: a randomized, controlled trial / E. M. Rupp, J. S. Lisco, A. P. Lipsett [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2005. – Vol.143. – P. 570-580.

135. Tebbs S.E. A novel antimicrobial central venous catheter impregnated with benzalkonium chloride / S.E. Tebbs, T. Elliott// *J. Antimicrob. Chemother.* – 2000. – Vol. 46.– P. 261-271.

136. Are antiseptic-coated central venous catheters effective in a real-world setting / D. Borschel, C. Chenoweth, S. Kaufman [et al.] // *Am. J. Infect. Control.* –

2006. – Vol. 34, № 6. – P. 388-393.

137. Кондратюк В. М. Мікробіологічне обґрунтування деяких способів профілактики гнійно-запальних ускладнень, пов'язаних з використанням катетерів : дис. на здобуття науч. ступеня кандидата мед. наук : спец. 03.00.07. «Мікробіологія» / В. М. Кондратюк. – Вінниця, 2009. – 247 с.

138. Обґрунтування ефективності антисептичного препарату декасан в лікуванні хворих на гнійно-запальні захворювання / Г. К. Палій, В. П. Ковальчук, Н. М. Деркач [та ін.] // Український хіміотерапевтичний журнал. - 2010. - № 1-2 (23). – С.78-82.

139. Чутливість до антибіотиків та антисептиків мікрофлори ротової порожнини хворих на гемобластози / Н. С. Фоміна, З. М. Прокопчук, С. А. Іванова [та ін.] // Biomedical and biosocial anthropology. – 2010. - № 15. - С. 60-66.

140. Палій В. Г. Протимікробна активність антисептиків декасану та фурациліну у пацієнтів з урологічною інфекцією / В. Г. Палій, В. П. Ковальчук, О. В. Римша // Biomedical and biosocial anthropology. – 2012. - № 18. – С. 41-44.

141. Дослідження чутливості збудників гнійно-запальних захворювань до сучасних антимікробних препаратів / Г. К. Палій., О. А. Назарчук, Г. Г. Назарчук // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. - 2014. – № 1. - С. 52-57.

142. Бузинна Ю. Б. Вплив четвертинних амонієвих сполук на процес елімінації плазмід антибіотикорезистентності E.COLI / Ю. Б. Бузинна, Б. І. Гушилик, А. В. Парусов // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського, 1-6 жовт. 2013р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 225.

143. Вивчення формування резистентності мікроорганізмів до таблетованих антисептичних препаратів / О.І. Жорняк, В.М. Мруг, І.Ю. Кучма [та ін.] // Biomedical and biosocial anthropology. – 2010. - № 15. – С. 57-60.

144. Стукан О.К. Резистентність клінічних штамів бактерій до антисептиків / О.К. Стукан, Н.В. Задерей, Є.Ф. Макац // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського, 1-6 жовт. 2013р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 332.

145. Палій Д.В. Дослідження антисептиків в умовах формування

резистентності у мікроорганізмів / Д.В. Палій, О.К. Стукан // Biomedical and biosocial anthropology. – 2014. - № 22. – С. 54-57.

146. Поляченко Ю. В. Экспериментально-клиническое обоснование целесообразности применения декаметоксина в комплексном лечении больных постравматическим остеомиелитом : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук : спец. 14.01.20. «Травматология и ортопедия» / Ю. В. Поляченко. – Киев, 1995. – 22 с.

147. Превар А. П. Показники неспецифічної резистентності організму під впливом декасану і лексикону / А. П. Превар, А. В. Крижановська // Biomedical and biosocial anthropology. - 2012. – № 18. – С. 47-49.

148. Ковальчук В. П. Шляхи посилення протимікробної активності лізоциму / В. П. Ковальчук, Н. С. Фоміна, С. В. Бобрук // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського, 1- 6 жовт. 2013р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 261.

149. Вивчення можливостей застосування супозиторіїв з антисептиками в лікуванні гнійно–запальних захворювань у жінок / З. М. Прокопчук, Н. П. Дзісь, І. М. Коваленко [та ін.] // Biomedical and biosocial anthropology. – 2008. – № 11. – С. 100-103.

150. Применение антисептика декасана в неотложной абдоминальной хирургии / П. Д. Фомин, А. И. Лиссов, С. Н. Козлов [и др.] // Клінічна Хірургія. – 2009. – № 11–12. – С. 98-100.

151. Игнатьева В. И. Эффективность антисептика декасан в комплексном лечении больных с обострением хронического полипозно-гнойного гайморозтмоидита / В. И. Игнатьева, Г. Л. Гуменюк, Г. Б. Капитан // Хіміотерапевтичний журнал. – 2010. – № 1–2 (23). – С. 54-56.

152. Применение антисептика декасана при гнойных инфекциях параректальной области / М. П. Захараш, Н. Д. Кучер, М. И. Криворук [и др.] // Клінічна хірургія. – 2011. – № 4. – С. 18-20.

153. Осадчук Н. І. Мікробіологічне обґрунтування застосування декасану у комплексному лікуванні пацієнтів з патологією лор-органів / Н. І. Осадчук, Д.

В. Палій, О. О. Гончар // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського, 1-6 жовт. 2013р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 307.

154. Береза Б. М. Дослідження ефективності лікувальної композиції з декаметоксином для місцевого лікування гінгівіту / Б. М. Береза, О. А. Назарчук, Л. І. Чепель // *Biomedical and biosocial anthropology*. – 2014. - № 22. – С. 169-172.

155. Коваленко І. М. Дослідження антисептичних властивостей супозиторіїв десептол, лексикон / *Biomedical and biosocial anthropology*. – 2014. - № 22. – С. 113-116.

156. Дослідження протимікробних властивостей засобу з декаметоксином / Г. К. Палій, О. А. Назарчук, Д. В. Палій [та ін.] // *Світ медицини та біології*. – № 2 (44). – 2014. – С. 146-148.

157. Римша О. В. Антимікробна активність декасану у пацієнтів з урологічною патологією / О. В. Римша, В. М. Мруг // *Імунологія та алергологія. Наука і практика*. – 2014. – Додаток № 1. – С. 85-86.

158. Ковальчук В. П. Принципи надання пролонгованих антимікробних властивостей волокнистим матеріалам / В. П. Ковальчук, В. Г. Палій, О. А. Моравська // *Анали Мечніковського інституту*. – Харків, 2003. – С. 4–5.

159. Моравська О. А. Клініко-експериментальне обґрунтування застосування шовного матеріалу, імпрегнованого декаметоксином: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.03 «Хірургія» / О. А. Моравська. – Вінниця, 2005. – 23 с.

160. Кондратюк В. М. Вивчення можливих шляхів антимікробного захисту виробів медичного призначення / В. М. Кондратюк // *Військова медицина України*. – 2006. – Т. 6, № 4. – С. 83-85.

161. Ковальчук В. П. Доклінічне вивчення ефективності нових адгезивних лікарських засобів для протимікробного захисту полімерних виробів медичного призначення / В. П. Ковальчук, В. М. Кондратюк, Д. І. Гадлевська // *Ліки - людині. Сучасні проблеми створення, дослідження та апробації лікарських засобів* : мат. XXVI наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 12 бер. 2009 р. : тези доп. – Х., 2009. – С. 47.

162. Вивчення протимікробних властивостей сучасних імпрегнованих антисептиками матеріалів / Ю. Л. Волянський, О. А. Назарчук, І. М. Вовк [та ін.] // Biomedical and biosocial anthropology. – 2010. - № 15. – С. 36-39.
163. Засіб для надання поверхні виробів медичного призначення антимікробних властивостей / В. М. Кондратюк, Ю. Ю. Трофіменко, В. П. Бобрук [та ін.] // Biomedical and biosocial anthropology. - 2012. – № 18. – С. 221-223.
164. Назарчук О. А. Протимікробні властивості медичних антисептичних матеріалів / О. А. Назарчук, Г. Г. Назарчук, Б. М. Береза // XIII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського, 1-6 жовт. 2013р. : тези доп. – Ялта, 2013. – С. 303.
165. Римша О. В. Характеристика ефективності використання уретральних катетерів з протимікробним покриттям / О. В. Римша, Л. К. Сорокоумова // Biomedical and biosocial anthropology. – 2014. - № 22. – С. 160-163.
166. Царев А. В. Декасан в профилактике и лечении вентилятор-ассоциированной пневмонии у пациентов с политравмой / А. В Царев // Медицина неотложных состояний. – 2012. - № 7-8. – С. 46-47.
167. Методика статистической обработки медицинской информации в научных исследованиях / В. П. Осипов, Е. М. Лукьянова, Ю. Г. Антипкин [и др.]; под ред. В. П. Осипова, рец. Н. А. Шишенок. – К.: Планета людей, 2002. – 200 с.
168. Гланц С. Медико-биологическая статистика (программа BIOSTAT для IBMPC) [Электронный ресурс] / С. Гланц. - М.: Практика, 1999. – Режим доступа : [http:// www.remedium.ru/public/books/practuca/de-lail.php&ID=18898](http://www.remedium.ru/public/books/practuca/de-lail.php&ID=18898).
169. Ventilator-associated pneumonia in neonatal patients: an update / M. Gernada, M. Brugada, S. Golombek // Neonatology. – 2014. – Vol. 105. – P. 98-107.
170. Ventilator-associated pneumonia in neonatal patients: an update / M. Gernada, M. Brugada, S. Golombek // Neonatology. – 2014. – Vol. 105. – P. 98-107.