

УДК 616-002.2-053.2-085.28:579.262



ДАВИДЕНКО В.Б., МІШИНА М.М., М'ЯСОЄДОВ В.В., ПАЩЕНКО Ю.В.,
ШТИКЕР С.Ю., ДАВИДЕНКО Н.В.

Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна

ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИМІКРОБНОЇ ТЕРАПІЇ ПРИ ЛІКУВАННІ ДІТЕЙ З ТЯЖКИМИ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ НА ОСНОВІ ПРИГНІЧЕННЯ БІОПЛІВКОУТВОРЕННЯ ТА ВРАХУВАННЯ БІОРИТМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ МІКРООРГАНІЗМІВ

Резюме. В статті викладені результати клініко-експериментального дослідження, присвяченого вивченню біоплівки і біоритмічних особливостей патогенних мікробів та впливу на них ультразвуку й озону. **Мета дослідження** — вивчення особливостей сучасних патогенних мікробів, збудників гнійно-запальних захворювань у дітей, з метою удосконалення протимікробної терапії. **Матеріали та методи.** Робота базується на експериментальних мікробіологічних дослідженнях, присвячених вивченню біоплівкоутворення, біоритмічних властивостей патогенних мікробів і впливу на них ультразвуку й озону. **Результати та обговорення.** Проведені дослідження показали високу спроможність патогенних мікробів до біоплівкоутворення як один з основних факторів їх полірезистентності. Доведено руйнівний вплив на біоплівки низькоінтенсивного ультразвуку в поєднанні з озоном. Виявлені добові біоритми в життєдіяльності патогенних мікробів щодо продукції факторів патогенності. Розроблені схеми підвищення ефективності протимікробної терапії гнійно-запальних захворювань у дітей. **Висновки.** 1. Проведені дослідження визначили добову динаміку продукції факторів патогенності клінічних штамів *S.aureus* і *E.coli* та встановили високу ферментативну активність та утворення щільних біоплівок із подальшою продукцією планктонних клітин о 9:00, 12:00, 15:00 та 21:00. Піки зниження продукції ферментів агресії зафіксовано о 6:00 та 18:00. 2. Показано, що більшість ізолятів у формі планктонних клітин мали множинну антибіотикорезистентність (89,2–97,8 % випадків), що є наслідком широкого та не завжди раціонального застосування антибіотиків. 3. Встановлено, що під впливом ультразвукового випромінювання на фактори патогенності клінічних штамів *E.coli* та *S.aureus* пригнічується активність ферментів агресії, здатність до біоплівкоутворення та продукції планктонних клітин. 4. Обґрунтована можливість комплексного застосуван-

Адреса для листування з авторами:
Давиденко В'ячеслав Борисович
Кафедра дитячої хірургії та дитячої анестезіології ХНМУ
61022, м. Харків, проспект Леніна, 4, ХНМУ
E-mail: davidenko47@mail.ua

© Давиденко В.Б., Мішина М.М., М'ясоєдов В.В.,
Пашенко Ю.В., Штикер С.Ю., Давиденко Н.В., 2015
© «Хірургія дитячого віку», 2015
© Заславський О.Ю., 2015

ня ультразвукового випромінювання та озону для лікування вогнища запалення при гнійно-запальних захворюваннях у дітей, що сприяє пригніченню продукції планктонних клітин і здатності до формування вторинних біоплівкок полірезистентними штамми *S.aureus* і *E.coli* та викликає повний бактеріоліз у зоні дії ультразвуку й озону. 5. Проведені дослідження стали об'єктивним підґрунтям до впровадження в клінічну практику таких сучасних методів лікування, як ультразвукова обробка осередків запалення й озонотерапія при гострих деструктивних пневмоніях, поширених формах перитонітів і гострому гематогенному остеомиєліті у дітей. 6. Виявлені біоритмічні закономірності життєдіяльності патогенних мікроорганізмів, які є адекватною відповіддю на дію протимікробних засобів, дають можливість для розробки гнучкої протимікробної стратегії. Розробка такої стратегії потребує подальших поглиблених досліджень у цьому напрямку.

Ключові слова: гнійно-запальні захворювання, біоплівки, біоритми, ультразвук, озон.

Вступ

Гнійно-запальні захворювання становлять значний відсоток усіх хірургічних захворювань у дітей. Такі захворювання, як гострі перитоніти, деструктивні пневмонії, гострий гематогенний остеомиєліт, мають тяжкий перебіг, нерідко ускладнюються і можуть призводити до несприятливих наслідків.

Одним з основних факторів таких явищ є висока резистентність сучасної патогенної мікрофлори до антимікробних засобів, що значною мірою знижує ефективність патогенетичної протимікробної терапії.

Внаслідок цього, незважаючи на розробку сучасних препаратів і впровадження новітніх технологій для боротьби з патогенними мікроорганізмами, питання терапії гнійно-запальних захворювань залишається відкритим [1, 2].

Експериментальні дані останніх десятиріч свідчать про складну організацію мікробних спільнот у природних умовах проживання. Збудники утворюють навколо себе захисну плівку й успішно охороняють себе від дезінфектантів та антибіотичних засобів [3]. Дослідники припускають, що у бактерій існують біологічні ритми — клітинні годинники, що відіграють роль енергії метаболізму і про що свідчить ендогенність біоритмів і мінливість тривалості їх циклів протягом існування [4]. На зміну концепції єдиного мікробного збудника гнійно-запальних захворювань прийшли теорії асоціації мікробних спільнот — біоплівок [5, 6, 9]. Провідними країнами щодо дослідження впливу на біоплівку патогенів є США, Росія й Україна [7]. Аналіз літератури показав, що в Україні спеціальних досліджень щодо методів протимікробного впливу залежно від форми існування й біоритмів ізолятів, як шляху покращення результатів лікування гнійно-запальних захворювань, майже немає.

Формування біоплівки патогенними мікроорганізмами значно ускладнює лікування гнійно-запальних процесів, обумовлених ними. Це є наслідком значного підвищення резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів, оскільки у біоплівках реалізуються процеси, що практично не відбуваються у вільних формах існування бактерій. У складі біоплівки мікроорганізми набувають надзвичайної стійкості до дії антибактеріальних препаратів, бактеріофагів, антитіл і фагоцитів [8].

Великою проблемою є те, що біоплівки утворюються на поверхні виробів медичного призначення — катетерах, ендопротезах, ендотрахеальних трубках, ім-

лантатах, хірургічних нитках та ін. Це стає загрозою тяжких ускладнень гнійно-запальних процесів, особливо несприятливого перебігу післяопераційного періоду та формування хронічних осередків запалення [9].

Використання антибіотиків, що погано проникають у біоплівку, дуже швидко призводить до формування стійких штамів. Ефективність проникнення антибіотиків значною мірою пов'язана з їх здатністю переборювати поверхневу оболонку та міжклітинний матрикс біоплівок, в яких міститься велика кількість стабільних ліпідів, що заважають проникненню антибіотиків. У цьому сенсі вкрай важливим є розробка методів деструкції біоплівок з метою надання можливості протимікробним засобам контактувати з патогенними збудниками гнійно-запальних захворювань.

Немедикаментозні методи лікування гнійно-запальних процесів не тільки альтернативні лікарським, але в деяких випадках мають значні переваги як методи функціональної регулюючої терапії. Так, ефективним, легко відновлювальним і недорогим методом, що підвищує ефективність протимікробної терапії, є метод озонотерапії. Доведено, що озоновані розчини діють антибактеріально, підвищують молекулярну біоенергетику крові, активують ферменти, поліпшують окислювально-відновлювальний потенціал та обмінні процеси.

Фізичні основи ультразвукової обробки гнійних осередків вивчаються досить давно. Встановлено, що ефект впливу ультразвуку на біомакромолекули полягає в процесі їх деградації з подальшим пригніченням біокаталітичної активності.

Аналіз літературних даних показує, що вплив ультразвукового випромінювання та озону на біоплівки патогенних мікроорганізмів недостатньо вивчений. Практично невідомі ефекти комбінованого використання ультразвуку та озону з традиційними методами лікування гнійно-запальних захворювань. Розв'язання цього завдання становить значний науковий інтерес і може мати як фундаментальне, так і прикладне значення.

Для сучасного етапу розвитку мікробіології характерними є дослідження біологічних властивостей мікроорганізмів щодо виявлення їх коливань протягом доби. Вивчення біоритмічних властивостей мікроорганізмів відкриває нові можливості у розв'язанні ряду як загальнобіологічних, так і медичних проблем — механізмів адаптації, чутливості до лікарських засобів, діагностики, лікування, профілактики гнійно-запальних

захворювань людини. Недостатня ефективність терапії гнійно-запальних процесів певною мірою пояснюється наявністю механізмів захисту у бактерій від дії фізико-біологічних факторів.

Одним із таких механізмів є продукція факторів патогенності. Надзвичайно важливим є виявлення в живій системі ритмічних коливань різних життєвих процесів.

Тому вивчення факторів патогенності клінічних штамів на прикладах *S.aureus* і *E.coli* протягом доби дозволить по-новому підійти до оцінки біологічних властивостей збудника, сприяючи розробці раціональних підходів до мікробіологічної діагностики гнійно-запальних госпітальних інфекцій, створення передумов для подальших досліджень щодо здійснення ефективних антимікробних заходів і до більш повної характеристики механізмів, що сприяють розвитку інфекційної патології.

З огляду на це цікавим з наукової та практичної точки зору є виявлення поведінки патогенних мікробів протягом доби як наслідку їх відповіді на дію проти-мікробних засобів.

Метою даної роботи стало клініко-експериментальне дослідження впливу ультразвуку в поєднанні з місцевою озонотерапією на різні форми бактерій, які є збудниками гострих гнійно-запальних захворювань у дітей, а також вивчення біоритмічних властивостей патогенної мікрофлори з метою удосконалення проти-мікробної терапії.

Матеріали та методи

Предметом мікробіологічного дослідження були: референтні штами мікроорганізмів *S.aureus* (ATCC 25923 = NCDC 25923 = F-49), *E.coli* (ATCC 25922 F50 = NCDC F50), одержані з Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України та клінічні штами, вилучені з венфлонів, дренажних конструкцій і катетерів (*S.aureus*, n = 10; *E.coli*, n = 10) та з клінічного матеріалу від хворих дітей з гнійно-запальними процесами (*S.aureus*, n = 10; *E.coli*, n = 10), які перебували у КЗОЗ «Обласна дитяча клінічна лікарня № 1» м. Харкова.

Матеріалом для дослідження були: ранова тканина, гнійний ексудат, перев'язувальний і шовний матеріал, катетери та дренажні конструкції.

Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводилося за допомогою електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) за шкалою McFarland згідно з інструкцією до приладу. Ферментативну ідентифікацію проводили за допомогою ідентифікаційних наборів «Мікро-Ла-Тест». Оптичну щільність вимірювали за допомогою мікропланшетного фотометра зі змінними фільтрами Multiskan EX. Ідентифікація вилучених мікроорганізмів проводилася на основі морфологічних, культуральних, біохімічних і антигенних властивостей. Чутливість ізолятів до антимікробних засобів із різним механізмом дії на мікробну клітину вивчали за допомогою мікротест-системи з напівкількісною реєстрацією результатів «ТНКтестГр».

Для вивчення кінетики росту мікробів культури мікроорганізмів, вирощені на твердому поживному середовищі, змивалися суспензійним середовищем і їх концентрація доводилася до відповідних одиниць за шкалою McFarland за допомогою приладу Densi-La-Meter (Чехія). Мікроорганізми вирощувалися при $t = 37^\circ\text{C}$. Кожні 3 години в усіх штамів, що вивчалися, визначалася концентрація мікробних клітин за допомогою приладу Multiskan EX 355 при довжині хвилі 540 нм.

Утворення біоплівки вивчали за допомогою визначення здатності штамів бактерій до адгезії на поверхні 96-коміркових полістиролових планшетів для імуноферментного аналізу. Вимірювали оптичну щільність розчину бактерій на спектрофотометрі при довжині хвилі 540 нм.

Як джерело ультразвукового випромінювання було використано генератор ультразвуку УЗТ-1.01Ф з технічними характеристиками: ультразвукові хвилі низької інтенсивності від 2 до 3 Вт/см²; робоча частота коливань — 26,5 кГц; амплітуда коливань — від 50 до 80 мкм. Опромінення проводилось 5 і 10 хвилин. Як озонеміщуючу рідину використовували озонований фізіологічний розчин натрію хлориду з умістом озону 4–6 мг/л (озонатор ОЗОН УМ-80, м. Харків).

Результати та обговорення

Адгезія є початковим етапом формування біоплівки. Патогенетичні механізми гнійно-запальних процесів, зумовлених *S.aureus*, пов'язані з особливостями збудника, який використовує декілька механізмів для подолання протимікробного захисту макроорганізму. Такими механізмами є адгезія, інвазія, продукція ферментів агресії. При визначенні адгезивної активності *S.aureus* було встановлено, що вона залежить від часу доби. Так, штами *S.aureus*, що були вилучені від хворих на гнійно-запальні процеси, проявляли найвищу активність о 12:00 (7,19 ± 0,19 од.) і 21:00 (7,42 ± 0,48 од.) порівняно з активністю о 6:00 та 18:00 (2,50 ± 0,18 од.опт.щільн. і 2,31 ± 0,23 од.опт.щільн. відповідно) коли спостерігалася тенденція до зниження індексу адгезивності *S.aureus*. Найбільш високоадгезивні штами були зареєстровані при виділенні *S.aureus* з венфлонів і дренажних конструкцій о 12:00 (7,69 ± 0,14 од.) і 21:00 (7,02 ± 0,15 од.).

При аналізі результатів щодо визначення рівня адгезивної активності штамів *E.coli* встановлено, що високоадгезивними виявилися клінічні штами *E.coli*, які були вилучені з венфлонів, дренажних конструкцій, катетерів (ІАМ становив 8,08 ± 0,17 од.) та клінічні штами від хворих на гнійно-запальні процеси (7,24 ± 0,22 од.) о 15:00. Слід відзначити, що високою адгезією відзначалися й клінічні штами від хворих з гнійно-запальними процесами о 9:00 (4,26 ± 0,19 од.), 12:00 (6,28 ± 0,18 од.) та 21:00 (7,10 ± 0,19 од.), а також клінічні штами з венфлонів і дренажних конструкцій: о 9:00 (4,65 ± 0,13 од.), 12:00 (7,05 ± 0,18 од.) та 21:00 (6,56 ± 0,18 од.).

Оскільки здатність до утворення щільної біоплівки, що спроможна продукувати нові планктонні клітини,

які з часом, у свою чергу, теж здатні утворювати нові (вторинні) біоплівки вважаються факторами патогенності мікроорганізмів, наступним етапом дослідження було визначення добової динаміки формування біоплівок, здатності продукувати планктонні клітини ізолятами *S.aureus* і *E.coli*.

Дослідження добової динаміки утворення щільних біоплівок клінічними штамми *S.aureus* і *E.coli* та продукції планктонних клітин зі здатністю формувати нові біоплівки дозволили виявити, що максимальний показник утворення добових щільних біоплівок з продукцією планктонних клітин клінічних штамів *S.aureus* і *E.coli* зареєстровано о 9:00, 12:00, 15:00 і 21:00. Спостерігається тенденція до меншої щільності утворення біоплівок зі зниженням активності продукції планктонних клітин о 6:00 і 18:00.

Отже, утворення біоплівок бактерій залежить від адгезивних властивостей патогену, що полягає в тому, що від біоплівки відриваються окремі клітини, здатні через деякий час прикріпитися до наступних поверхонь та утворювати нову колонію. Добова динаміка утворення щільних біоплівок з подальшою продукцією планктонних клітин клінічними штамми *S.aureus* і *E.coli* спостерігається о 9:00, 12:00, 15:00 і 21:00. Зниження активності продукції планктонних клітин ізолятами зареєстровано о 6:00 і 18:00.

Сьогодні у клінічній практиці найчастіше використовуються протимікробні препарати з групи фторхінолонів — левофлоксацин та β-лактамі антибіотики — цефтріаксон та амоксилав, які є препаратами широкого спектра дії і до яких тривалий час зберігається висока чутливість у багатьох мікроорганізмів. Завданням наступного розділу роботи було вилучення полірезистентних шпитальних штамів *S.aureus* і *E.coli* з визначенням добової динаміки продукції планктонних клітин та утворення біоплівок під впливом антибіотиків.

У результаті дослідження встановлено, що чутливість *S.aureus* і *E.coli* до левофлоксацину, як у формі біоплівки, так і у планктонній формі, дещо вища, ніж до цефтріаксону й амоксилаву протягом доби. Було визначено, що о 12:00 і 21:00 відзначалась висока резистентність (100 %) клінічних штамів *S.aureus* і *E.coli* як у планктонній формі, так й у формі біоплівки до усіх антимікробних препаратів, що досліджені. Слід зазначити, що о 6:00 і 18:00 спостерігається підвищення чутливості клінічних штамів до антимікробних препаратів, що можна пояснити тим, що у цей час доби зареєстровані зниження продукції факторів патогенності, в тому числі й ферментів агресії, та низька щільність утворених біоплівок.

Отже, при визначенні дії антимікробних препаратів, які досить часто застосовуються у медичній практиці при терапії гнійно-запальних процесів, на *S.aureus* і *E.coli* залежно від форми існування та часу культивування протягом доби встановлено, що найефективнішим протимікробним засобом, що пригнічує ріст суспензійної культури й утворення добової біоплівки полірезистентних клінічних штамів *S.aureus* і

E.coli о 6:00 та 18:00 є, за нашими даними, левофлоксацин. Отже, антибіотикорезистентність *S.aureus* і *E.coli* пов'язана з формуванням щільної біоплівки та продукцією факторів патогенності у певний час доби.

У результаті проведення дослідження впливу ультразвукового випромінювання *in vitro* на сформовані біоплівки ізолятів *E.coli* і *S.aureus* було встановлено, що після опромінення сформованих біоплівок *E.coli* протягом 10 хвилин ультразвуковими хвилями низької інтенсивності спостерігається зниження оптичної щільності біоплівки у 2,8 раза порівняно з оптичною щільністю біоплівки *E.coli* до опромінення ($0,39 \pm 0,03$ од.опт.щільн. і $1,10 \pm 0,01$ од.опт.щільн. відповідно).

Аналогічні дані здобуті при вивченні дії ультразвукового випромінювання протягом 10 хвилин на сформовані добові біоплівки *S.aureus*: зафіксовано зниження показника оптичної щільності у 4,5 раза порівняно з таким до опромінення ($0,25 \pm 0,07$ од.опт.щільн. і $1,12 \pm 0,03$ од.опт.щільн. відповідно), що свідчить про порушення цілісності сформованих біоплівок ізолятів.

При визначенні здатності до біоплівкоутворення планктонними клітинами *E.coli* та *S.aureus* після дії безперервного низькоінтенсивного ультразвукового випромінювання протягом 10 хв встановлено, що вилучені планктонні клітини не здатні формувати щільні біоплівки: $0,068 \pm 0,010$ од.опт.щільн. і $0,08 \pm 0,02$ од.опт.щільн. відповідно, що є дуже важливим критерієм призначення адекватної комбінованої терапії.

При аналізі поєднаної дії ультразвуку й озону встановлено, що оптична щільність біомаси знизилася у 2,4 раза порівняно з початковою бактеріальною суспензією *S.aureus* та у 19,2 раза порівняно з контролем, що свідчить про відсутність здатності до репродукції й стадії бактеріолізу.

Що стосується комплексного впливу ультразвуку й озонаного фізіологічного розчину на суспензійні культури ізолятів *E.coli*, то здобуті результати показали, що показник оптичної щільності біомаси знизився у 5 разів порівняно з контролем. Планктонні клітини, як *S.aureus*, так і *E.coli*, були не здатні продукувати біоплівки ($0,0030 \pm 0,0001$ од.опт.щільн.) порівняно з контрольними значеннями та дією тільки ультразвуковим опроміненням.

Також встановлено, що під впливом ультразвуку й озону щільність сформованих біоплівок *S.aureus* і *E.coli* зменшується у 16,4 й 12,3 раза відповідно порівняно з контролем ($0,068 \pm 0,002$ од.опт.щільн. і $1,112 \pm 0,060$ од.опт.щільн.; $0,090 \pm 0,007$ од.опт.щільн. і $1,110 \pm 0,005$ од.опт.щільн. відповідно), що свідчить про руйнівну дію ультразвуку на екзоклітинний матрикс біоплівок.

Отже, оптимальною для деструкції та інгібування утворення вторинних біоплівок досліджених ізолятів є дія ультразвукового випромінювання комплексно з озонованим фізіологічним розчином.

Висновки

1. Проведені дослідження визначили добову динаміку продукції факторів патогенності клінічних штамів *S.aureus* і *E.coli* та встановили високу ферментативну

активність та утворення щільних біоплівки з подальшою продукцією планктонних клітин о 9:00, 12:00, 15:00 та 21:00. Піки зниження продукції ферментів агресії зафіксовано о 6:00 та 18:00.

2. Показано, що більшість ізолятів у формі планктонних клітин мали множинну антибіотикорезистентність (89,2–97,8 % випадків), що є наслідком широкого та не завжди раціонального застосування антибіотиків.

3. Встановлено, що під впливом ультразвукового випромінювання на фактори патогенності клінічних штамів *E.coli* та *S.aureus* пригнічується активність ферментів агресії, здатність до біоплівкоутворення та продукції планктонних клітин.

4. Обґрунтована можливість комплексного застосування ультразвукового випромінювання та озону для лікування вогнища запалення при гнійно-запальних захворюваннях у дітей, що сприяє пригніченню продукції планктонних клітин і здатності до формування вторинних біоплівки полірезистентними штамми *S.aureus* і *E.coli* та викликає повний бактеріоліз у зоні дії ультразвуку й озону.

5. Проведені дослідження стали об'єктивним підґрунтям до впровадження в клінічну практику таких сучасних методів лікування, як ультразвукова обробка осередків запалення та озонотерапія при гострих деструктивних пневмоніях, поширених формах перитонітів і гострому гематогенному остеомієліті у дітей.

6. Виявлені біоритмічні закономірності життєдіяльності патогенних мікроорганізмів, які є адекватною відповіддю на дію протимікробних засобів, дають можливість для розробки гнучкої протимікробної стратегії. Розробка такої стратегії потребує подальших поглиблених досліджень у цьому напрямку.

Список літератури

1. Гайдаш І.С., Флегонтова В.В., Шевченко М.Ю. та ін. Чутливість до антибіотиків — збудників гнійно-

запальних захворювань хірургічного профілю // *Укр. хіміотерапевт. журн.* — 2001. — № 2. — С. 29-32.

2. Гумеров А.А., Лапиров С.Б., Гайнанов Ф.Х. и др. Актуальные вопросы хирургической инфекции у детей // *Мат-лы Всероссийского симпозиума детских хирургов.* — Воронеж, 2004. — С. 73-74.

3. Заславская Н.В., Артеменко Н.К., Чижевская М.М., Тец В.В. Особенности выживаемости бактерий в микробных сообществах // *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* — 2000. — № 2. — С. 2-19.

4. Ильина Т.С., Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития // *Генетика.* — 2004. — № 40(11). — С. 1-12.

5. Мавров И.И., Васильченко И.И., Белозеров А.П. Биопленки и Quorum sensing у микроорганизмов. Биопленки и проблема эффективности антибактериальной терапии // *Дерматология та венерология.* — 2007. — № 4(38). — С. 19-22.

6. Мошкевич И.П. Микробные биопленки при смешанных инфекциях: Автореф. дис... канд. мед. наук: спец. 03.00.07 «Микробиология» / Мошкевич И.П. — СПб., 2007. — 20 с.

7. Raffa R.B., Iannuzzo J.R., Levine D.R., Saeid K.K. Bacterial communication («quorum sensing») via ligands and receptors: a novel pharmacologic target for the design of antibiotic drugs // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2005. — Vol. 312, № 2. — P. 417-423.

8. Costerton W., Veoh R., Shirtliff M. et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections // *Clin. Invest.* — 2003. — № 112. — P. 1466-1477.

9. Olson M. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics // *Can. J. Vet. Res.* — 2002. — № 66(2). — P. 86-92.

Отримано 20.08.15 ■

Давиденко В.Б., Мишина М.М., Мясоедов В.В., Пашченко Ю.В., Штыкер С.Ю., Давиденко Н.В. Харьковський національний медичинський університет, г. Харків, Україна

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДЕТЕЙ С ТЯЖЕЛЫМИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ НА ОСНОВЕ УГНЕТЕНИЯ БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ И УЧЕТА БИОРИТМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Резюме. В статье изложены результаты клинко-экспериментального исследования, посвященного изучению биопленок и биоритмических особенностей патогенных микробов и влиянию на них ультразвука и озона. **Цель исследования** — изучение особенностей современных патогенных микробов, возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний у детей с целью усовершенствования противомикробной терапии. **Материалы и методы.** Работа базируется на экспериментальных микробиологических исследованиях, посвященных изучению биопленкообразования, биоритмических свойств патогенных микробов и влиянию на них ультразвука и озона. **Результаты и обсуждение.** Проведенные исследования показали высокую способность патогенных микробов к биопленкообразованию как одному из основных

факторов их полирезистентности. Доказано разрушительное влияние на биопленки низкоинтенсивного ультразвука в сочетании с озоном. Выявлены суточные биоритмы в жизнедеятельности патогенных микробов относительно продукции факторов патогенности. Разработаны схемы повышения эффективности противомикробной терапии гнойно-воспалительных заболеваний у детей. **Выводы.** 1. Проведенные исследования определили суточную динамику продукции факторов патогенности клинических штаммов *S.aureus* и *E.coli* и установили высокую ферментативную активность и образование плотных биопленок с последующей продукцией планктонных клеток в 9:00, 12:00, 15:00 и 21:00. Пики снижения продукции ферментов агрессии зафиксированы в 6:00 и 18:00. 2. Показано, что большинство изолятв в форме

планктонних кліток мали множественну антибіотико-резистентність (89,2–97,8 % випадків), що є наслідком широкого і не завжди раціонального застосування антибіотиків. 3. Встановлено, що під впливом ультразвукового випромінювання на фактори патогенності клінічних штамів *E.coli* і *S.aureus* подавляється активність ферментів агресії, здатність до біопленкоутворення і продукції планктонних кліток. 4. Обґрунтовано можливість комплексного застосування ультразвукового випромінювання і озону для лікування осередків запалення при гнійно-воспалительних захворюваннях у дітей, що сприяє придушенню продукції планктонних кліток і формуванню вторинних біопленок полірезистентними штамми *S.aureus* і *E.coli* і викликає повний бактеріоліз в зоні дії ультразвуку

і озону. 5. Проведені дослідження стали об'єктивним підґрунтям для впровадження в клінічну практику таких сучасних методів лікування, як ультразвукова обробка осередків запалення і озонотерапія, при гострих деструктивних пневмоніях, поширених формах перитоніту і гострому гематогенному остеомиєліті у дітей. 6. Виявлені біоритмічні закономірності життєдіяльності патогенних мікроорганізмів, які є адекватною реакцією на дію протимікробних засобів, дають можливість розробити гнучку протимікробну стратегію. Розробка такої стратегії потребує подальших углибованих досліджень в цьому напрямку.

Ключові слова: гнійно-воспалительні захворювання, біопленки, біоритми, ультразвук, озон.

Davydenko V.B., Mishyna M.M., Miasoiedov V.V., Pashchenko Yu.V., Shtyker S.Yu., Davydenko N.V.
Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

IMPROVING THE EFFECTIVENESS OF ANTIMICROBIAL THERAPY IN THE TREATMENT OF CHILDREN WITH SEVERE PURULENT-INFLAMMATORY DISEASES THROUGH BIOFILM FORMATION INHIBITION AND CONSIDERATION OF BIORHYTHMIC PROPERTIES OF MICROORGANISMS

Summary. The article presents the results of clinical and experimental studies of biofilms and biorhythmic characteristics of pathogens and their exposure to ultrasound and ozone.

The objective of the research — to study the features of modern pathogenic microbes, causative agents of purulent-inflammatory diseases in children in order to improve antimicrobial therapy. **Materials and methods.** The work is based on experimental microbiological studies of biofilm formation, biorhythmic properties of pathogens and their exposure to ultrasound and ozone. **Results and discussion.** Studies have shown a high ability of pathogenic microbes to biofilm formation as one of the main factors of their polyresistance. Devastating effects on biofilm of low-intensity ultrasound in combination with ozone has been proved. Daily biorhythms in the activity of pathogens in terms of pathogenicity factors production were identified. Schemes to increase the efficiency of antimicrobial therapy for purulent-inflammatory diseases in children were developed. **Conclusions.** 1. The researches identified the daily dynamics of production of pathogenicity factors of clinical strains of *S.aureus* and *E.coli* and showed a high enzymatic activity and the formation of dense biofilms with further production of planktonic cells at 9:00, 12:00, 15:00 and 21:00. Peaks of reduced production of aggression enzymes were recorded at 6:00 and 18:00. 2. It is shown that the majority of isolates in the form of planktonic cells had

multiple antibiotic resistance (89.2–97.8 % of cases), which is the result of broad and not always rational use of antibiotics. 3. It was found that under the influence of ultrasonic radiation on factors of pathogenicity of clinical strains of *E.coli* and *S.aureus*, activity of aggression enzyme, ability to biofilm formation and production of planktonic cells are inhibited. 4. The possibility of combined use of ultrasonic radiation and ozone to treat the inflammation in purulent inflammatory diseases in children is justified that promotes the inhibition of planktonic cells production and the ability to form secondary biofilms by multiresistant strains of *S.aureus* and *E.coli* and causes complete bacteriolysis in the area of ultrasound and ozone effect. 5. The researches became an objective basis for the introduction into the clinical practice of modern therapeutic interventions, such as ultrasound treatment of inflammation foci and ozone therapy in acute destructive pneumonia, common forms of peritonitis and acute hematogenous osteomyelitis in children. 6. Identified biorhythmic patterns of pathogenic microorganism activity that are adequate response to the action of antimicrobial agents make it possible to develop flexible antimicrobial strategy. The development of such a strategy requires further in-depth studies in this area.

Key words: purulent inflammatory diseases, biofilm, biorhythms, ultrasound, ozone.