

СОСТОЯНИЯ МИКРОФЛОРЫ КОЖИ И ДРЕНАЖНЫХ КОНСТРУКЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева НАМН Украины (г. Харьков)

gramatyuk@ukr.net

Работа является фрагментом комплексной инициативной темы ГУ «Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева Академии медицинских наук Украины» «Изучение эффективности фотодинамической терапии для лечения инфицированных лучевых повреждений кожи», № гос. регистрации 0114U000058.

Вступление. В структуре онкологической заболеваемости женщин рак молочной железы занимает первое место. В последние годы в хирургическом лечении рака молочной железы произошли определенные позитивные изменения, связанные с оптимизацией показаний к органосохраняющим операциям, внедрение методики радикальных резекций молочных желез [1-3, 6]. Пересмотр клинико-биологических концепций течения опухолевого процесса, дифференцированный подход в лекарственной терапии опухолей позволил уменьшить объем оперативного вмешательства при раке молочной железы, что способствовало значительному улучшению качества жизни, психологического и социального статуса больных [4, 5, 11].

В онкологической практике серьезную угрозу для больных представляют бактериальные и грибковые инфекции, являющиеся причиной повышения смертности в послеоперационном периоде. Часто в качестве возбудителя таких инфекций выступают представители эндогенной микрофлоры пищеварительного тракта и кожи [7, 15].

Нормальная микрофлора кожи в совокупности с факторами неспецифической резистентности и иммунными механизмами препятствует заселению биотопов кожи потенциально патогенными микроорганизмами, обеспечивая колонизационную резистентность (КР). В случае снижения КР увеличивается число и спектр потенциально патогенных микроорганизмов, отмечается их транслокация во внутренние органы и на дренажные конструкции в послеоперационном периоде и как следствие развитие гнойно-воспалительных процессов и септицемии [8]. При комплексном лечении онкологических заболеваний, а также в результате иммунодепрессивного влияния опухоли может наблюдаться изменение микробного биоценоза, выражающееся в увеличении количественного и изменении качественного состава микрофлоры [12]. При этом возможно снижение бактерицидной активности кожи.

Цель исследования - изучение состояния микрофлоры кожи и дренажных конструкций в

послеоперационном периоде пациентов с раком молочной железы.

Объект и методы исследования. Оперативное лечение рака молочной железы было проведено 203 пациентам, которые были разделены на 2 группы: 1 - группа сравнения - 61 человек, где основным видом оперативного вмешательства была радикальная резекция молочной железы (73,1%) и 2 - основная группа - 142 больных, где проводилась квадрантэктомия молочной железы.

Показанием для органосохраняющих операций были: опухоли не более 3,0 см в диаметре (по данным маммографии), отсутствие признаков прорастания опухоли в кожу и подлежащие ткани, без рентгенологических данных за наличие мультицентричного роста и отдаленных метастазов.

Нами было проведено качественное и количественное исследование микрофлоры кожи, бактерицидной активности кожи (БАК) у 30 женщин группы сравнения и 47 пациенткам основной группы в до и послеоперационном периоде. Также было проведено изучение микробной обсемененности дренажных конструкций у 96 пациентов с раком молочной железы.

Микрофлору кожи исследовали методом бактериальных отпечатков по методу Н.Н. Клемпарской с использованием стерильных пластиковых микрочашек площадью 10 см² с набором стандартных питательных сред: кровяной, желточно-солевой агары, среды Эндо и Сабуро [11, 15]. Отпечатки брали с различных биотопов кожи: предплечье, правая и левая молочная железа. Время аппликации составляло 5 с. Учет колоний проводили спустя 24 ч инкубации при 37°C, для грибов - через 5 суток при комнатной температуре. Дифференцировку микроорганизмов проводили по морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам. Определение общей микробной обсемененности кожи проводили методом смывов. Оценка бактерицидной активности кожи проводилась по методу Н.Н. Клемпарской и Г.А. Шальной [11].

Антибиотикочувствительность определяли диск-диффузионным методом, перечень антибиотиков составляли в соответствии с действующими нормативными документами [9]. Способность микроорганизмов формировать биопленки оценивали по оптической плотности (ед. ОП) на биохимическом анализаторе LabLine-90 [12, 13].

Для изучения способности микроорганизмов к формированию биопленок на дренажных конструкциях пользовались следующими методами.

Таблица 1

Микробная обсемененность различных биотопов кожи больных с раком молочной железы

Общее микробное число (КОЕ/10 см ²)	Группы пациентов				Группа условно-здоровых (n=20)
	РМЖ до оперативного вмешательства		РМЖ после оперативного лечения		
	Группа сравнения (n=30)	Основная группа (n=47)	Группа сравнения (n=30)	Основная группа (n=47)	
Кожа предплечья	38,6±4,7*	35,1±4,2*	33,2±4,8*	31,5±3,8*	19,7±2,3
Неповрежденный участок молочной железы	47,7±5,1*	43,6±3,5*	40,4±3,2*	39,8±3,7*	27,3±3,6
Пораженный участок молочной железы	76,8±6,3*	68,6±5,9*	62,5±5,5*	60,1±5,3*	--

Примечание: * - разница достоверна между группами p ≤ 0,05.

Бактериальную культуру заседали на скошенный агар и инкубировали в термостате 24 часа при температуре 37°C. Слив из агаровой культуры проводили добавлением 1 мл физиологического раствора и доводили до стандарта мутности по Мак-Фарланду 10⁹ клеток / мл. Формирование биопленок на дне пластиковых планшетов, которые имеют 96 лунок, проводили следующим образом: в каждую лунку вносили по 150 мкл питательной среды, и 10 мкл культуры, кроме последней лунки, которая составляла контрольные показатели. Инкубацию планшетов проводили в термостате при 37°C 24 часа. На следующий день содержимое лунок отбирали, и отмывали

трижды физиологическим раствором. В лунки вносили 150 мкл дистиллированной воды и 15 мкл 1% спиртового раствора генцианвиолета и инкубировали при комнатной температуре 45 минут. Краситель отбирали и промывали лунки трижды дистиллированной водой. Далее в лунки вносили по 250 мкл этилового спирта и инкубировали при комнатной температуре 45 минут. После этого оптическую плотность биопленок измеряли при длине волны 545 нм на анализаторе LabLine-90.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Стьюдента, коэффициента линейной корреляции Пирсона и коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты исследований и их обсуждение.

Сроки лечения в стационаре составили в среднем 14,3±2,5 суток. Результаты микробной обсемененности различных биотопов кожи пациентов с раком молочной железы представлены в **таблице 1**. Так обсемененность до оперативного вмешательства была достоверно выше и отличалась в зависимости от участка кожи и составила для предплечья 38,6±4,7 КОЕ/10 см² в группе сравнения, 35,1±4,2 КОЕ/10 см² в основной группе при сравнении с условно-здоровыми 19,7±2,3 КОЕ/10 см². Схожую динамику имеют показатели обсемененности и на неповрежденном и поврежденном участке кожи.

У женщин с раком молочной железы (РМЖ) до начала лечения на коже предплечья высевались ассоциации стафилококков 2-3 видов, у 27,5 % отмечался рост монокультуры, а на коже молочных желез определялись более 3 видов стафилококка и 2—3 видов микрококка. При этом гемолитические штаммы составляли более 34 % от общего количества выделяемых микроорганизмов (**табл. 2**).

После проведенного хирургического лечения ведущую роль в каждом микробиоценозе занимали стафилококки, резко снизилось количество дифтероидов и появились грибы рода *Candida*. При этом доля гемолитических штаммов достигла более 60 %. У 43% пациенток определялся *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). На коже молочных желез множественность ассоциаций стафилококка оставалась прежней,

Таблица 2

Состав микрофлоры на не поврежденном участке кожи молочной железы до оперативного вмешательства

Виды микроорганизмов	Общее микробное число (КОЕ/10 см ²)		
	Группа сравнения (n=30)	Основная группа (n=47)	Группа условно-здоровых (n=20)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	13,5±1,9	14,3±2,1	15,1±2,2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	41,2±3,6	38,6±3,7	44,0±3,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	34,6±3,1	32,8±3,3	29,4±2,9
<i>Micrococcus spp.</i>	40,8±2,5	43,3±2,4	41,7±2,8
<i>Sarcina spp.</i>	37,1±1,7	38,4±2,4	40,3±2,0
<i>Bacillus</i>	10,4±2,1	11,8±1,5	10,9±1,7
<i>Enterococcus faecalis</i>	36,9±2,8	38,0±2,3	40,3±2,5
<i>Corynebacterium spp.</i>	32,5±1,6	35,2±1,4	31,8±1,2
<i>Propionibacterium spp.</i>	5,0±0,7	4,7±0,5	5,2±0,6

Примечание: * - разница достоверна между группами p ≤ 0,05.

а микрококк либо не определялся вообще, либо высевался в монокультуре.

Проведенное исследование показало, что у женщин с РМЖ появлялись условно-патогенные микроорганизмы, численность их возрастала после проведенного оперативного вмешательства. Оперативное лечение приводит к снижению КР, что, в свою очередь, приводит к увеличению микроорганизмов с признаками вирулентности. Анализ проведенных исследований показал, что различные биотопы кожи больных РМЖ отличались повышенной микробной обсемененностью. На коже пораженной молочной железы определялось в три раза больше микроорганизмов, чем на коже неповрежденной молочной железы. Известно, что количество микроорганизмов, колонизирующих кожу, возрастает при различных



Рис. 1. Индекс бактерицидной активности у женщин с раком молочной железы до и после оперативного вмешательства.

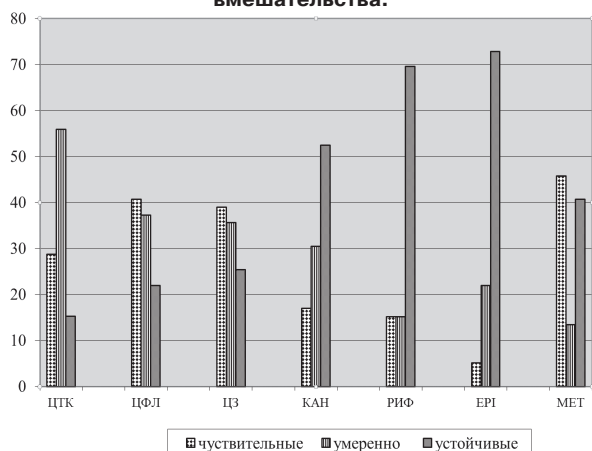


Рис. 2. Антибиотикоустойчивость штаммов S. aureus у больных с острым гнойным холангитом.

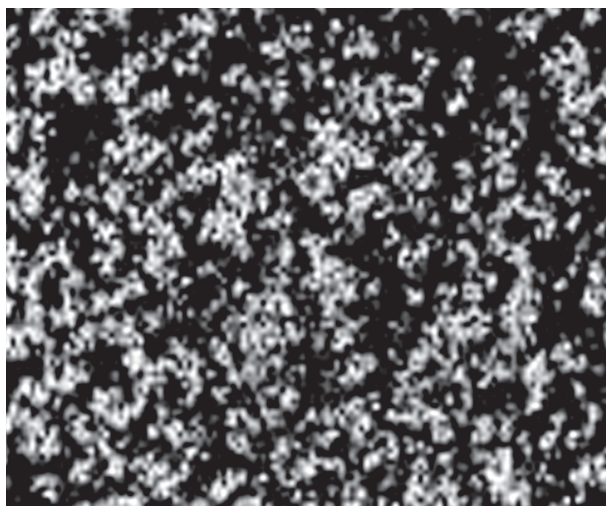


Рис. 3. Биопленка S. Epidermidis (штамм 1823/3) на поверхности дренажной конструкции. Микроскопия в темном поле, объектив x 60.

патологических состояниях. Считают, что это явление связано со снижением реактивности организма [3-6, 8]. Изучение нормальной микрофлоры кожи женщин с РМЖ в послеоперационном периоде позволило выявить глубокие нарушения в составе кожного микробиоценоза, проявляющиеся в скудности видового

разнообразия, увеличении числа условно-патогенных микроорганизмов, что указывает на снижение КР вследствие влияния самой опухоли. В ходе изучения бактерицидной активности кожи было выявлено достоверное снижение этого показателя у больных РМЖ до лечения. В послеоперационном периоде БАК достоверно ($p \leq 0,05$) возросла (рис. 1).

Таким образом, у женщин с РМЖ еще до оперативного лечения выявляются нарушения в кожном микробиоценозе (дисбактериоз кожи), снижается бактерицидная активность кожи. В послеоперационном периоде признаки дисбактериоза кожи нарастают. Снижается общее микробное число кожи и повышается ее бактерицидная активность.

Из дренажных конструкций после оперативного вмешательства было выделено 58 штаммов возбудителей. Большую часть (24 штаммов) составил *Staphylococcus aureus* (S. aureus). Реже встречались энтеробактерии – 14 штаммов (5 штаммов *Escherichia coli*, 5 – *Klebsiella pneumoniae*, 2 – *Enterobacter spp.*, 2 – *Proteus mirabilis*). У 16 пациентов с РМЖ с дренажных конструкций выделены штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, различных по чувствительности к антибиотикам и 11 штаммов грибов *C.albicans*.

У 32 пациентов возбудитель был выделен в монокультуре, у 29 – в ассоциациях: *S. aureus* + *S. epidermidis* (9 случаев), *S. aureus* + *E. coli* (5), *S. aureus* + *P. aeruginosa* (4), *S. aureus* + *C.albicans* (4), *S. aureus* + *Kl. pneumoniae* (7). Особенного внимания заслуживает факт выявления большого количества более 30% *S. aureus*, устойчивых к ванкомицину и метициллину. В отношении энтеробактерий достоверную ($p \leq 0,05$) чувствительность установлено к цефепиму и карбапенемам. Выявлено, что 3 штамма *E. coli* и 2 штамма *K. pneumoniae* являются продуцентами b-лактамаз расширенного спектра действия. Все штаммы *Kl. pneumoniae* были чувствительны к меропенему и имипенему. При изучении чувствительности к противомикробным препаратам установлено, что штаммы *S. aureus* характеризовались высоким уровнем чувствительности к цефтриаксону, фузидину и цефазолину (рис. 2).

Анализ способности к формированию биопленок возбудителями выделенными из дренажных конструкций *in vitro* показал неравномерность распределения этого признака среди групп патогенов. Для выявления на поверхности дренажной конструкции бактериальной биопленки, нами брался стандартный по площади кусочек (площадь – 0,25 см²) помещали в чашку Петри (диаметр 40 мм) и заливали питательной средой в зависимости от возбудителя и стандартизованную по оптической мутности взвесь бактерий. Инкубировали в течение 48 часов при 37 °С. После инкубации для выявления бактерий на поверхности дренажных конструкций микроскопировали в темном поле (рис. 3).

Наиболее высокие значения способности к формированию биопленок определены у *S. aureus*, *S. epidermidis* и *K. pneumoniae*. Данная способность у *E. coli* встречался несколько реже и характеризовался более низкими значениями.

Выявлена прямая корреляционная зависимость между способностью микроорганизмов к

образованию биопленки и длительностью течения заболевания (коэффициент линейной корреляции $r=0,63$). Корреляционная связь способности возбудителей образовывать биопленку со сроками появления грануляций в ранах была слабой ($r=-0,24$), как и с уровнем чувствительности микроорганизмов к использованному в работе антибиотикам ($r = -0,28$).

Клинические штаммы *S.aureus*, *C.albicans* и *K.pneumoniae*, выделенных с дренажных конструкций пациентов РМЖ, достоверно ($p \leq 0,05$) имели более выраженную способность формированию биопленок, что повышает вероятность колонизации этими микроорганизмами.

Роль стрептококков, энтерококков и анаэробов в раневой инфекции достаточно велика [1, 6, 8, 11, 15], однако у обследованных больных с РМЖ только в 8,5 % случаев выделены данные микроорганизмы с дренажных конструкций. Проведенные исследования выявили значительную связь способности бактерий формировать биопленки с резистентностью к разным антибиотикам. Установлена сильная корреляционная зависимость между способностью микроорганизмов к образованию биопленок и длительностью послеоперационного периода, что дает возможность

использовать указанное свойство как маркер прогноза течения заболевания.

Поскольку бактерии в биопленке более устойчивы к действию как антимикробных препаратов [9, 11, 14] не вызывает сомнения, тот факт что одним из направлений лечения хирургических инфекций должно быть подавление способности образовывать биопленки [5] и разрушение уже имеющихся [9, 10, 12-14].

Выводы.

1. Для больных раком молочной железы характерно снижение колонизационной резистентности и бактерицидной активности.

2. Биоценоз кожи больных раком молочной железы отличается высокой микробной обсемененностью, как до оперативного вмешательства так и после, и характеризуется появлением условно-патогенных микроорганизмов и угнетением бактерицидной активности.

3. В послеоперационном периоде у больных раком молочной железы нарастают признаки дисбиоза кожи.

Перспективы дальнейших исследований. Изучение связи микробиоциноза кожи пациентов с раком молочной железы и показателей белков острой фазы, лизоцима и состояния кератинизации.

Литература

1. Бондаренко В.М. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта / В.М. Бондаренко, Б.В. Боев, Е.А. Лыкова, А.А. Воробьев // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 1998. - № 1. - С. 66-70.
2. Воробьев А.А. Бактерии нормальной микрофлоры: биологические свойства и защитные функции / А.А. Воробьев, Е.А. Лыкова // ЖМЭИ. - 1999. - № 6. - С. 102-105.
3. Крамарь В.С. Пространственная структурная иерархия микроорганизмов в биоценозе кожи / В.С. Крамарь // Вестн. Волгоградского государственного медицинского университета. - Волгоград, 2003. - Т. 58, Вып. 9. - С. 23-27.
4. Сидоренко С.В. Роль бактериальных биопленок в патологии человека / С.В. Сидоренко // Инф. в хир. - 2004. - № 2. - С. 16-20.
5. Тец В.В. Биопленки возбудителей уроинфекций и использование фторхинолонов / В.В. Тец, Н.К. Артеменко, Н.В. Заславская, Г.В. Тец // Consilium Medicum. - 2008. - № 4. - С. 110-114.
6. Шагинян И.А. Формирование биопленок клиническими штаммами бактерий комплекса *Burkholderia cepacia* в зависимости от их фенотипических и генотипических характеристик / И.А. Шагинян, Г.А. Данилина, М.Ю. Чернуха // Журн. микробиол. - 2007. - № 1. - С. 3-9.
7. Bjarsholt T. Silver against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms / T. Bjarsholt, K. Kirketerp-Moller, S. Kristiansen // APMIS. - 2007. - Vol. 115. - P. 921-928.
8. Costerton J.W. Microbial biofilms / J.W. Costerton, Z. Lewandowski, D.E. Caldwell // Ann. Rev. Microbiol. - 1995. - Vol. 49. - P. 711-745.
9. Davis S.C. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization in vivo. / S.C. Davis, C. Ricotti, A. Cazzaniga // Curr. Opin. Infect. Dis. - 2008. - Vol. 16. - P. 23-29.
10. Edwards R. Bacteria and wound healing / R. Edwards, K.G. Harding // Curr. Opin. Infect. Dis. - 2004. - Vol. 17. - P. 91-96.
11. Espinoza L.R. Insights into the pathogenesis of psoriasis and psoriatic arthritis / L.R. Espinoza, R. van Solingen // Am. J. Med. Science. - 1998. - Vol. 316. - P. 271-276.
12. Harrison-Balestra C. A wound-isolated *Pseudomonas aeruginosa* grows a biofilm in vitro within 10 hours and is visualized by light microscopy / C. Harrison-Balestra, A.L. Cazzaniga, S.C. Davis, P.M. Mertz // Dermatol. Surg. - 2003. - Vol. 29. - P. 631-635.
13. Kirketerp-Moller K. Distribution, organization, and ecology of bacteria in chronic wounds. / K. Kirketerp-Moller, P.O. Jensen, M. Fazli // J. Clin. Microbiol. - 2008. - Vol. 46. - P. 2717-2722.
14. Lewis K. Multidrug tolerance of biofilms and persister cells / K. Lewis // Curr. Top. Microbiol. Immunol. - 2008. - Vol. 322. - P. 107-131.
15. Suresh K. Differentiation of the various stages of *Blastocystis hominis* by acridine orange staining / K. Suresh, G.C. Ng, L.C. Ho, H. Yap // Int. J. Parasitol. - 1994. - Vol. 24. - P. 605-606.

УДК 591.176-001.29:57.084:599

СТАН МІКРОФЛОРИ ШКІРИ ТА ДРЕНАЖНИХ КОНСТРУКЦІЙ У ПАЦІЄНТІВ З РАКОМ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ Красносельський М.В., Біла А.Ю., Граматюк С.М.

Резюме. Досліджено стан мікрофлори різних ділянок шкіри і дренажних конструкцій в до і післяопераційному періоді пацієнтів з раком молочної залози. Так колонізація до оперативного втручання була достовірною вище і відрізнялася в залежності від ділянки шкіри і склала для передпліччя $38,6 \pm 4,7$ КУО / 10 см^2 в групі порівняння,

35,1 ± 4,2 КУО / 10 см² в основній групі при порівнянні з умовно-здоровими 19,7 ± 2,3 КУО / 10 см². Схожу динаміку мають показники обсіменіння і на неушкодженій і ушкодженій ділянці шкіри. Для хворих на рак молочної залози характерне зниження колонізаційної резистентності та бактерицидної активності до 65,3% в післяопераційному періоді. Біоценоз шкіри хворих на рак молочної залози відрізняється високою мікробною колонізацією, як до оперативного втручання так і після та характеризується появою умовно-патогенних мікроорганізмів і пригніченням бактерицидної активності.

Ключові слова: мікробіоциноз шкіри, біоплівки, дренажні конструкції, рак молочної залози.

УДК 591.176-001.29:57.084:599

СОСТОЯНИЯ МИКРОФЛОРЫ КОЖИ И ДРЕНАЖНЫХ КОНСТРУКЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Красносельский Н.В., Белая А.Ю., Граматюк С.Н.

Резюме. Исследовано состояние микрофлоры различных участков кожи и дренажных конструкций в до и послеоперационном периоде пациентов с раком молочной железы. Так обсемененность до оперативного вмешательства была достоверно выше и отличалась в зависимости от участка кожи и составила для предплечья 38,6±4,7 КОЕ/10 см² в группе сравнения, 35,1±4,2 КОЕ/10 см² в основной группе при сравнении с условно-здоровыми 19,7±2,3 КОЕ/10 см². Схожую динамику имеют показатели обсемененности и на неповрежденном и поврежденном участке кожи. Для больных раком молочной железы характерно снижение колонизационной резистентности и бактерицидной активности до 65,3% в послеоперационном периоде. Биоценоз кожи больных раком молочной железы отличается высокой микробной обсемененностью, как до оперативного вмешательства так и после и характеризуется появлением условно-патогенных микроорганизмов и угнетением бактерицидной активности.

Ключевые слова: микробиоциноз кожи, биопленки, дренажные конструкции, рак молочной железы.

UDC 591.176-001.29:57.084:599

The Skin Microflora and Surgical Drainage Structures in Patients with Breast Cancer

Krasnoselskii N.V., Bila H.J., Gramatiuk S.M.

Abstract. One in eight women will be diagnosed with breast cancer in their lifetime. It is the second leading cause of death in women, with >40,000 deaths annually. Despite the \$5.5 billion spent on breast cancer research over the past twenty years, the origins of a majority of breast cancer cases (estimated to be as high as 70%) remain unknown. It is crucial to understand how these sporadic breast cancers arise in order to develop preventative strategies against this devastating disease. The recent appreciation of the influence of microbiota on human health. Microbes inhabiting the human body outnumber human cells 10:1. Their influence on human health and disease is a new and rapidly expanding area of research. Bacteria in the breast have been studied in the context of infections and in healthy individuals, but no comprehensive study of bacteria in breast cancer has been reported. Here, we characterized and compared the microbiota in breast tumor and paired normal tissue and identified dysbiosis that was associated with breast cancer disease state and severity.

The *aim* - the study of the microflora of the skin and drainage structures in the postoperative patients with breast cancer.

Materials and methods. Surgical treatment of breast cancer was conducted 203 patients who were divided into 2 groups: 1 group - 61 people, where the main type of surgery was radical resection of the breast (73.1%) and 2 patients with a core group of -142, where ectomy performed quadrant of the breast. Differentiation of microorganisms was performed by morphological, tinctorial and biochemical properties. Determination of total microbial content of the skin was performed by flushing. Evaluation of the bactericidal activity of the skin was performed by the method by N.N. Klemparskoy and G.A. Shalnova.

Antimicrobial susceptibility was determined by disk-diffusive, the list of antibiotics accounted for in accordance with existing regulations. The ability of microorganisms to form biofilms was assessed by optical density (OD) on the biochemical analyzer LabLine-90. Statistical analysis of the results was conducted using analysis of variance, using Student's coefficient, correlation and regression.

Result and Discussion. The condition of the various parts of the skin microflora and drainage structures in the pre- and postoperative patients with breast cancer. Since contamination before surgery was significantly higher and vary depending on the area of the skin of the forearm and amounted to 38,6 ± 4,7 CFU / 10 cm² in the comparison group, 35,1 ± 4,2 CFU / 10 cm² in the study group when compared to conditionally healthy 19,7 ± 2,3 CFU / 10 cm². Similar dynamics are indicators of contamination on intact and damaged skin. For patients with breast cancer is characterized by a decrease colonization resistance and bactericidal activity to 65.3% in the postoperative period. Biocoenosis the skin of patients with breast cancer has a high microbial contamination, both before surgery and after, and is characterized by the appearance of opportunistic pathogens and inhibition of bactericidal activity.

Keywords: microbiocenosis skin biofilm, drainage structures, breast cancer.

Рецензент – проф. Почерняева В.Ф.

Стаття надійшла 03.06.2015 р.