

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ім. І.І. МЕЧНИКОВА
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»**

КОНДРАТЮК ВЯЧЕСЛАВ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК: 355.01:582.282.23:616-08

**МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ НОВОЇ
КОНЦЕПЦІЇ ПРОТИМІКРОБНОЇ ТЕРАПІЇ
ІНФЕКЦІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ УСКЛАДНЕНЬ БОЙОВИХ
ПОРАНЕНЬ У ЗБРОЙНОМУ КОНФЛІКТІ
СУЧАСНОСТІ**

03.00.07 – мікробіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Харків – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М. І. Пирогова МОЗ України.

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор, **Ковальчук Валентин Петрович**, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **Климнюк Сергій Іванович**, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології;

доктор медичних наук, професор **Бірюкова Світлана Василівна**, Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, професор кафедри клінічної імунології та мікробіології;

доктор медичних наук, професор **Дейнека Святослав Євгенович**, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України, завідувач кафедри мікробіології та вірусології.

Захист відбудеться « 23 » квітня 2020 р. об 11.00 години на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України» (61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 14-16).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України» (61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 14-16).

Автореферат розісланий « 20 » березня 2020 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради
Д 64.618.01, к. мед. н.



Воронкіна І. А.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. У період проведення антитерористичної операції (АТО) на сході України, основним завданням військово-польової хірургії стала ліквідація наслідків вогнепальних ушкоджень та мінно-вибухових травм. У структурі санітарних втрат переважають поранення кінцівок – 57,1 %, серед яких пошкодження м'яких тканин склало 74 % (Верба А. В., 2016; Хоменко А. В. та ін., 2016). Кількість нагноєних ускладнень складала від 6 – 18 % до 50 – 75 % у різні періоди АТО (Лакша А. М., 2015; Корольков О. І. та ін., 2017). Це зумовлює збільшення терміну перебування в стаціонарі у 2,5 рази, зростання кількості оперативних втручань (ампутацій), збільшення глибокої інвалідизації на 5 % та випадків тимчасової трудової інвалідизації на 20 % (Шевченко О.Г., та ін., 2017).

Інфекційні ускладнення, що супроводжують бойові поранення в сучасних конфліктах зумовлюються бактеріями з множинною стійкістю до антибіотиків, а саме: *Acinetobacter baumannii*, продуцентами бета-лактамаз широкого спектру *Klebsiella pneumoniae* та *Escherichia coli*, та метицилінрезистентними *Staphylococcus aureus* (Campbell W. R. et al., 2017; Penn-Barwell J. et al., 2012; Murray C.K. et al., 2011). Стійкість до протимікробних засобів у цих мікроорганізмів стрімко зростає, що ускладнює адекватне призначення системної антибактеріальної терапії, вимагає комбінації кількох препаратів, але веде до розвитку ускладнень та подальшої стимуляції антибіотикорезистентності (Gray D. A. et al., 2020; Falagas, M. E. et al., 2014). Визнаним є факт формування бактеріями біоплівки, що принципово змінює їх властивості та викликає необхідність враховувати це при виборі лікування (Snyder R. J. et al., 2017). Вважається, що біоплівкові форми мікроорганізмів значною мірою затримують загоєння ран (Azevedo M. M. et al., 2020). Але дослідження не відтворюють багатогранну взаємодію бактерій та клітин макроорганізму при заселенні рани біоплівкоутворюючими бактеріями, не встановлено впливу окремих компонентів біоплівки на різні фази ранового процесу (Thompson M. G. et al., 2014). Отже, множинна стійкість до антибіотиків та існування бактерій у вигляді консорціумів – біоплівки, основні властивості сучасних контамінант бойових поранень, що зумовлюють невдачі у лікуванні. Враховуючи здатність антисептиків впливати на бактерії незалежно від їх метаболічного статусу, ефективно знищувати навіть резистентні до антибіотиків штами, слід вважати їх перспективними для застосування з метою руйнації біоплівки та знищення мікроорганізмів, що виявляють стійкість до хіміопрепаратів (Alhede M. et al., 2011; Kucisec - Tepes N., 2016). Проте, ефективність локальних форм доставки антисептиків залежить від властивостей полімерної матриці, здатності антисептика знищувати збудників не компроментуючи ранозагоєння (Marschall J. et al., 2013; Teixeira D. d. S. et al., 2018).

Важливим завданням сучасної медицини на шляху подолання антибіотикорезистентності є контроль за обґрунтованим та виваженим використанням антибіотиків (Campbell A. J. et al., 2020; Baur D. et al., 2017). Багатьма дослідниками доведена ефективність впливу системного керівництва антибактеріальною терапією на оптимізацію лікування інфекційних ускладнень та зменшення побічних ефектів, пов'язаних з використанням антибіотиків (Cunha C. V. et al., 2018; Henriksen T.-H. et al., 2019). Лікування інфекційних ускладнень бойових поранень має специфічні риси, які вимагають формалізації та врегулювання використання антибіотиків на основі даних мікробіологічного моніторингу та вивчення епідемічних особливостей розповсюдження мікроорганізмів (Stewart L. et al et al., 2020; Cooper R. et al., 2018).

Бойові поранення характеризуються виснаженням захисних, імунних та адаптаційних механізмів, що ускладнює ранозагоєння та диктує необхідність враховувати ці зміни в лікувальній тактиці (Hesselink L. et al., 2019; de Oliveira S. et al., 2016).

В Україні подібні дослідження не проводились, тому дані, про поширеність антибіотикорезистентних мікроорганізмів в умовах продовження збройного конфлікту є важливими і новими для багатьох медичних наукових галузей. Дослідження особливо актуальне в державі, де триває військовий конфлікт, а тому підвищується кількість пацієнтів з ранами різної тяжкості, які інфікуються мікроорганізмами стійкими до антибіотиків.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано у відповідності з планом досліджень НДР Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України «Вивчення біологічних властивостей мікроорганізмів, віднесених Всесвітньою організацією охорони здоров'я до списку «пріоритетних патогенів», що несуть загрозу здоров'ю людини та розробка засобів боротьби з ними», № держреєстрації 0117U006903. Дисертантом вивчено біологічні властивості мікроорганізмів, що спричиняють інфекційні ускладнення бойових поранень сучасності. Встановлені генетичні механізми множинної резистентності та розроблено нові методи її подолання.

Мета і завдання дослідження. *Мета* - створення сучасної концепції застосування протимікробних засобів у лікуванні вогнепальних та мінно-вибухових бойових ран, шляхом бактеріологічного моніторингу видової структури ранової мікробіоти з урахуванням динамічної зміни її складових при розвитку інфекційних ускладнень та на основі аналізу її чутливості до протимікробних препаратів.

Завдання дослідження:

1. Вивчити етіологічну структуру, провести моніторинг динаміки змін видового, кількісного складу провідних збудників інфекційних ускладнень у поранених на різних етапах лікування.

2. Вивчити біологічні властивості мікроорганізмів, що контамінують

рани та їх вплив на процес загоєння.

3. Визначити фенотипові прояви та генетичні маркери механізмів стійкості до антибіотиків у домінуючих у сучасності збудників інфекційних ускладнень ранового процесу.

4. Встановити епідеміологічні закономірності поширення полірезистентних мікроорганізмів в умовах сучасної лікувально-евакуаційної системи медичної служби Збройних сил України.

5. Дослідити показники загального аналізу крові постраждалих з бойовою травмою з метою оцінки вірогідності розвитку інфекційних ускладнень та прогнозу перебігу процесу загоювання ран.

6. Дослідити вплив антибіотиків, антисептичних лікарських препаратів та їх комплексної дії, як можливості подолання антибіотикорезистентності, на планктонні та плівкові форми збудників інфекційних ускладнень.

7. Розробити рецептуру полімерної депо-форми антисептиків для локального застосування в комплексному лікуванні бойових ран, дослідити кінетику виділення діючих речовин, їх вплив на процес ранозагоювання в експерименті.

8. Експериментально обґрунтувати доцільність спрямованого застосування полімерних систем локального виділення антисептиків у рановому ложі в комплексі з системною антибіотикотерапією при інфекційних ускладненнях бойових поранень.

9. Встановити перелік ефективних антибактеріальних препаратів та розробити алгоритм їх призначення і заміни з урахуванням прогнозованої зміни домінуючої мікробіоти бойових поранень при розвитку інфекційних ускладнень.

Об'єкт дослідження: перебіг інфекційних ускладнень у поранених з бойовими ранами, процес загоєння інфікованих бойових поранень.

Предмет дослідження: етіологічна структура, чутливість до антисептиків, антибіотиків, біологічні властивості, здатність до утворення біоплівки у збудників хірургічних інфекційних ускладнень; протимікробні властивості антимікробних матеріалів на процес ранозагоювання; мікробіологічний, та імунологічний статус пацієнтів з бойовими пораненнями; вплив хіміотерапевтичних засобів на лікування, перебіг інфекційних ускладнень та контамінацію поранень; морфологічні, імунологічні зміни в організмі, уражених тканинах при інфекційних ускладненнях та при застосуванні антимікробних матеріалів, закономірності поширення мікроорганізмів, що характеризуються множинною стійкістю до антибіотиків.

Методи дослідження. Мікробіологічні (виділення чистих культур бактерій та їх ідентифікація, вивчення протимікробних властивостей антибіотиків, антисептиків, полімерних матеріалів з антисептичними властивостями); експериментальний (дослідження лікувальних властивостей

нових протимікробних композицій на моделі інфікованих ран у лабораторних тварин); гістоморфологічні (вивчення особливостей перебігу репаративного процесу); лабораторний (визначення показників периферійної крові); молекулярно-генетичний (виявлення генетичних маркерів стійкості бактерій до антибіотиків); епідеміологічний (встановлення закономірностей поширення мікроорганізмів, що характеризуються множинною стійкістю до антибіотиків); математико-статистичні (визначення достовірності отриманих результатів, визначення прогностичних показників, опис кінетики фармпрепарату).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше з часів Другої Світової війни в Україні проведено вивчення мікрофлори, що супроводжує процес загоєння бойових поранень. У роботі наведені нові дані щодо етіологічної структури, мікроорганізмів, що викликають інфекційні ускладнення вогнепальних та мінно-вибухових ран. Встановлено, що у сучасному збройному конфлікті нового типу в Україні причиною інфекційних ускладнень стають бактерії, що мають внутрішньо госпітальне походження, а не мікроорганізми, які потрапляють в рану при первинному забрудненні.

Вперше отримано нові наукові дані про зміни домінуючої мікрофлори поранень у різні часові інтервали. Показано, що в момент пошкодження бойова рана контамінується коагулазо-негативними стафілококами або *E. coli* в кількості 10^2 - 10^3 колонієутворюючих одиниць (КОУ). Проте, на етапі лікування у спеціалізованих шпиталях, відбуваються вирішальні зміни у співвідношенні контамінант різних таксономічних груп. У цей період з 65 % – 79 % інфікованих ран виділяються грамнегативні бактерії серед яких, лідерами стають грамнегативні неферментуючі палички родів *Acinetobacter* та *Pseudomonas* (26,7 % – 58,0 % по різних закладах) та мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae* родів *Enterobacter*, *Klebsiella* та *Escherichia* (40,3 % – 42,4 % по різних закладах).

Вперше узагальнено результати моніторингу антибіотикорезистентності збудників інфекційних ускладнень бойових поранень в Україні та оновлено дані щодо частки мікроорганізмів різних таксономічних груп, що зберігають чутливість до антибіотиків. Показана неефективність пеніцилінів та цефалоспоринів, фторхінолонів, цефоперазону захищеного сульбактамом у відношенні мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* та грамнегативних неферментуючих паличок. Встановлено, що коломіцин та тігециклін зберігають свою активність у відношенні більше ніж 75 % клінічних ізолятів неферментуючих грамнегативних бактерій. Встановлено зниження ефективності карбапенемів у відношенні *P. aeruginosa* та *Acinetobacter* spp. та мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae*.

Вперше методом повного геномного секвенування проведено вивчення структури нуклеотидних послідовностей у мікрофлори, виділеної з бойових ран, визначено найпоширеніші генетичні детермінанти стійкості до

антибіотиків. У штамів, виділених в Україні, стійкість до карбапенемів у акінетобактерій асоційована з генами *blaOXA-23* та *blaOXA-24*, у *K. pneumoniae* та *E. cloacae* з геном *blaOXA-48*, у псевдомонад це був ген *blaIMP-34*. Потужні бета-лактамази розширеного спектру у акінетобактерій кодуються генами *blaPER-1*, *blaTEM-1B*; у псевдомонад генами *blaPER-4* та *blaVEB-1*; у *K. pneumoniae* та у всіх ізолятів *E. cloacae* – геном *blaCTX-M-15*. Серед ентеробактерій широко розповсюджені гени ефлюкських насосів для хінолонів – *oqxA*, *oqxB*; гени стійкості до аміноглікозидів. У ізолятів *S. aureus* та *S. haemolyticus* вивлено ген *mecA*. Встановлено, що грамнегативні бактерії родів *Acinetobacter* та *Pseudomonas* та мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae* містять генетичні детермінанти, що зумовлюють фенотипову стійкість одночасно до антибактеріальних препаратів кількох груп, а саме біфункціональні ферменти, що транскриптуються з генів *aac(6')Ib-cr*, *aac(3)-Ia*.

Отримані нові наукові дані щодо здатності до біоплівкоутворення серед чинників інфекційних ускладнень. Зокрема її активації внаслідок впливу фізичних факторів, поєднання цього феномену з множинною стійкістю до антибіотиків, та його впливу на перебіг ранового процесу. Вперше встановлено, що переважна більшість ранових ізолятів (63,3 %) володіє здатністю до плівкоутворення. В експерименті *in vitro* вперше досліджено, як під впливом негативного тиску (-125 атм) мікроорганізми родів *Acinetobacter*, *Pseudomonas* та родини *Enterobacteriaceae* змінюють свій фенотип, активуючи біоплівкоутворення. Формування біоплівок під впливом негативного тиску слід розглядати як захисний механізм, що забезпечує персистенцію збудників у ранах. Доведено, що біоплівкоутворення та резистентність до антибіотиків виявляються в бактерій як окремі, не пов'язані між собою біологічні властивості, які посилюють здатність бактерій до виживання.

Вперше експериментально обґрунтовано доцільність поєднаного застосування системної антибіотикотерапії та нових полімерних систем локальної доставки антисептиків з числа четвертинних амонієвих сполук. Розроблено рецептуру нової полімерної композиції з пролонгованими протимікробними властивостями, досліджено особливості кінетики вивільнення з неї антисептиків, визначено вплив на процес загоєння ран, доведено ефективність щодо ерадикації полірезистентних мікроорганізмів з ран.

Вперше вивчено епідеміологічні особливості поширення штамів мікроорганізмів, що спричиняють хірургічні інфекції поранень. Методами співставлення фенотипів антибактеріальної стійкості та мультилокусного секвенування клінічних ізолятів, що виділені в географічно віддалених госпіталях встановлено ступені спорідненості цих мікроорганізмів. Доведено, що сучасні бойові поранення контамінуються спорідненими клональними популяціями, які мають спільне джерело походження, і слід визнати, що вони є

госпітальним.

На основі порівняльного аналізу результатів визначення абсолютної та відносної кількості основних популяцій імунокомпетентних клітин периферійної крові у практично здорових людей та в постраждалих з бойовою травмою в динаміці вперше встановлено, що нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення (НЛС) має прогностичне значення щодо тривалості ранозагоювального процесу. При рівні НЛС 2,49 та вище слід передбачати тривалість ранозагоєння понад 21 добу та з урахуванням цього планувати етапність та характер лікувальних заходів.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведених досліджень дають практичній медицині цілісну уяву щодо спектру значимих для перебігу загоювання бойових ран мікроорганізмів у сучасних умовах та їх чутливості до наявного арсеналу протимікробних засобів.

Базуючись на результатах досліджень антибіотикочутливості мікроорганізмів, які контамінують вогнепальні рани в ході проведення АТО, та за рекомендаціями ВООЗ сформульовані методичні підходи по застосуванню антибіотиків при вогнепальних пораненнях. На основі результатів роботи Головним військово-медичним управлінням Міністерства оборони України видано Організаційно-методичні вказівки «Організація надання медичної допомоги військовослужбовцям із бойовими пораненнями кінцівок та м'яких тканин: роль етіотропної терапії», що містять алгоритм дій для практичних військових лікарів на всіх рівнях медичної допомоги, що має суттєвий медичний ефект.

Військовим лікарям рекомендований метод оцінки вірогідності розвитку інфекційних ускладнень та прогнозування перебігу загоювання ран на основі показників периферичної крові, що є простим та доступним у воєнно-польових умовах.

Генетичні послідовності виділених штамів, що ускладнюють загоєння бойових ран внесені до бази GenBank® у Національному центрі біотехнології та інформації (National Center for Biotechnology Information (NCBI), що має наукове значення для розширення досліджень мікроорганізмів, які циркулюють на теренах України.

Розроблено принципи комбінованої системної та локальної антимікробної терапії бойових поранень, які дозволяють підвищити ефективність лікування інфекційних ускладнень бойових поранень, обумовлених полірезистентними до антибіотиків ізолятами бактерій та зменшити застосування антибактеріальних препаратів, що має суттєвий медичний та економічний ефект.

Результати досліджень впроваджені в практичну діяльність клінік пошкоджень та відділень невідкладної хірургії, відділень реанімації та інтенсивної терапії ВМКЦ (Військово-медичних клінічних центрів) у м. Харкові (акт впровадження від 20.12.2018 р.), м. Вінниці (акт впровадження

від 21.12.2018 р.), м. Львові (акт впровадження від 01.12.2018 р.), м. Одесі (акт впровадження від 17.12.2018 р.), що дозволило суттєво зменшити кількість призначених антибіотиків та тривалість антибактеріальної терапії. Одержані результати наукових досліджень впроваджені в навчальні процеси кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України (акт впровадження від 26.04.2019 р.); кафедр мікробіології, епідеміології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України (акт впровадження від 25.02.2019 р.); кафедри мікробіології, вірусології та імунології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (акт впровадження від 12.03.2019 р.); кафедри мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (акт впровадження від 25.02.2019 р.); кафедри мікробіології та вірусології Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет МОЗ України» (акт впровадження від 26.02.2019 р.).

Особистий внесок здобувача. Автор самостійно провів патентно-інформаційний пошук, проаналізував та узагальнив дані літератури, сформулював тему, мету і завдання, методологію виконання роботи.

Особисто дисертантом вивчено етіологічну структуру ранових інфекцій, встановлено закономірності змін видового складу ранових контамінант залежно від фази ранозагоювального процесу та терміну лікування. Вивчено та проаналізовано біологічні властивості мікроорганізмів. Досліджено вплив біологічних властивостей, зокрема здатності до біоплівкоутворення на процес загоєння ран та її вплив на стійкість до протимікробних засобів. Детально вивчені фенотипові прояви та генетичні маркери механізмів стійкості до антибіотиків у домінуючих у сучасності збудників інфекційних ускладнень ранового процесу. Автором встановлено епідеміологічні закономірності поширення полірезистентних мікроорганізмів серед лікувальних закладів у сучасній лікувально-евакуаційній системі медичної служби Збройних сил України. Автором розроблено методика подолання антибіотикорезистентності у чинників ранових інфекційних ускладнень на основі комплексного застосування антибіотиків та антисептичного препарату декаметоксину. Здобувач вперше особисто розробив технологію виготовлення полімерних систем локального виділення декаметоксину в рановому ложі, дослідив їх фізико-хімічні, лікувальні властивості, описав кінетику виділення антисептика, їх вплив на загальний стан та тканини організму в експерименті.

Обґрунтував в експериментах *in vitro* та *in vivo* доцільність комбінованого застосування полімерних систем локального виділення декаметоксину разом з системною хіміотерапією для знищення мікроорганізмів з множинною антибактеріальною резистентністю.

Дослідив показники загальної імунологічної реактивності організму в постраждалих з бойовою травмою та сформував методологію оцінки вірогідності розвитку інфекційних ускладнень та прогнозу перебігу процесу загоювання ран.

На основі зібраних даних про чутливість до сучасних антибіотиків та поширення мікроорганізмів, що спричиняють інфекційні ускладнення поранень, автором розроблено рекомендації з профілактики та раціональної антимікробної терапії інфекційних ускладнень бойових поранень.

Самостійно автором проведено статистичну обробку матеріалу, аналіз результатів дослідження та оформлення роботи. Персональний внесок автора у всіх опублікованих зі співавторами працях наводиться за текстом дисертації та в авторефераті у списку фахових публікацій. Розробку та впровадження рекомендацій щодо раціональної антибактеріальної терапії септичних ускладнень бойових поранень здобувачем проведено у співавторстві з вченими Вінницького державного медичного університету ім. М.І. Пирогова, лікувальних установ Вінниці, Києва, Харкова, Львова, Одеси.

Усі наукові узагальнення, положення, результати, висновки та рекомендації, викладені в дисертації, виконані автором особисто.

Апробація матеріалів дисертації. Основні наукові положення дисертаційної роботи оприлюднено й обговорено на з'їздах та науково-практичних конференціях: Міжнародна наукова конференція «Мікробіологія та імунологія – перспективи розвитку в XXI столітті» (Київ, 2014); Науково-практична конференція «Довкілля і здоров'я», ТДМУ (Тернопіль, 2017); Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів присвяченої 150-річчю з дня народження Д. К. Заболотного», ВНМУ ім. М. І. Пирогова (Вінниця, 2016); Науково-практична конференція «Актуальні питання невідкладної хірургії», Інститут загальної і невідкладної хірургії АМН України (Харків, 2016); Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання надання хірургічної допомоги та анестезіологічного забезпечення в умовах воєнного і мирного часу», Десятий ювілейний з'їзд військових хірургів та анестезіологів (Київ, 2016), Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів», ВНМУ ім. М. І. Пирогова (Вінниця, 2018); Науково-практична конференція присвячена щорічним «Читанням» пам'яті академіка Л. В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського» Національної академії наук України «Інфекційні хвороби сучасності. Біологічна безпека та біозахист» (Київ, 2016); Науково-практична конференція «Інфекційні хвороби сучасності. Етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека», ДУ «Інститут

епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського Національної академії наук України (Київ, 2017, 2018); Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21st century III International Scientific Conference (Київ, 2018); Науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів «Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація)» (Харків, 2017); Перша міжнародна науково–практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів». Національний фармацевтичний університет (Харків, 2017); Дев'ятий Британсько-Український Симпозіум з анестезіології та інтенсивної терапії присвячений 60-річчю кафедри анестезіології та інтенсивної терапії КМАПО імені П.Л. Шупика (Київ, 2017); II Міжнародна заочна науково-практична конференція з міжнародною участю «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук» (Миколаїв, 2017); «Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності», БДМУ (Чернівці, 2018); Перший міжнародний конгрес «Раціональне використання антибіотиків у сучасному світі. Antibiotic resistance STOP!» (Київ, 2018); Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена азербайджанському видатному державному і науковому діячові АЛІЄВУ Азіз МАМЕДКЕРІМ огли (Баку, 2019).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 45 наукових праць (9 одноосібно), у тому числі 27 статей (22 статті в наукових фахових виданнях України, 3 – у міжнародних виданнях, 4 – включено до міжнародної наукометричної бази SCOPUS); 3 деклараційні патенти України на корисну модель, 1 патент України на винахід, 13 тез у збірках матеріалів з'їздів та науково-практичних конференцій з міжнародною участю, 1 організаційно-методичні вказівки.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 443 сторінках машинопису (основний текст на 299 стор.). Складається із вступу, огляду літератури, семи розділів власних досліджень, аналізу одержаних результатів та їх обговорення, висновків, практичних пропозицій та додатків. Список літератури нараховує 381 джерело, серед яких 269 латиницею та 112 кирилицею. Робота ілюстрована 70 таблицями та 96 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

В огляді літератури наведені сучасні уявлення про спектр та біологічні властивості мікроорганізмів, що зумовлюють інфекційні ускладнення бойових поранень кінцівок, існуючі методи знищення мікроорганізмів у ранах та невіршені питання в лікуванні цих ускладнень.

Об'єкт та методи дослідження. Наукова робота охопила всі існуючі рівні хірургічної допомоги пораненим під час антитерористичної операції. Дослідження проводили на передових етапах надання хірургічної допомоги, у

військовому мобільному шпиталі, військовому шпиталі у м. Дніпро та п'яти Військово-медичних клінічних центрах у м. Києві, м. Харкові, м. Вінниці, м. Львові, м. Одесі. За період 2014-2016 рр. проаналізовано 1752 історії хвороб поранених у кінцівки. З вказаних історій хвороб отримано дані про бактеріологічні характеристики поранень, клінічний та імунологічний стан поранених, характер лікування. Бактеріологічні характеристики ран збирали та враховували в різні часові інтервали від моменту поранення: у перші години від поранення до проведення первинної хірургічної обробки ран, на етапах проміжного та кінцевого лікування у ВМКЦ. Збір інформації про мікрофлору бойових поранень проводили шляхом прямого збору клінічного матеріалу та аналізуючи матеріали медичної документації. Під час дослідження виділено та ідентифіковано 424 клінічних ізоляти різних видів. Серед досліджених культур було 76 ізолятів *Acinetobacter* spp., з яких 69 - *Acinetobacter baumannii* та 7 - *Acinetobacter lwoffii*, 81 ізолят *Pseudomonas* spp., з яких 80 – *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* – 1, 54 – коагулазо-негативних стафілокока (*Staphylococcus epidermidis* – 45 ізолятів, *Staphylococcus haemolyticus* – 8 ізолятів, *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* – 1 ізолят), одна культура *Kocuria varians*, 25 культур *Staphylococcus aureus*, грамнегативних паличок родини *Enterobacteriaceae* – 125, серед яких *Escherichia coli* 49 ізолятів, *Enterobacter cloacae* – 27, *Enterobacter cloacae subsp. dissolvens* – 2, *Hafnia alvei* – 1, *Enterobacter aerogenes* – 4, *Citrobacter freundii* – 4, *Klebsiella pneumoniae* – 21, *Klebsiella oxytoca* – 10, *Proteus mirabilis* – 7, грампозитивних коків родини *Enterococcus* – 43, з яких 30 – *Enterococcus faecalis* та 13 – *Enterococcus faecium*, *Bacillus cereus* – 12 клінічних ізолятів, *Corynebacterium xerosis* – 6, *Candida albicans* – 1.

Дослідження біологічних властивостей мікроорганізмів та їх ідентифікацію здійснювали в бактеріологічних лабораторіях військових шпиталів, де лікувались поранені та ВНМУ ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця. Видову ідентифікацію клінічних штамів мікроорганізмів проводили з використанням тест-систем PLIVA – Lachema a. s., Чеська республіка, а також за допомогою автоматичного бактеріологічного аналізатора Vitek – 2compact bioMérieux (Франція).

Чутливість виділених культур мікроорганізмів до антибіотиків визначали стандартним диско-дифузійним методом. Кількісне вивчення чутливості виділених мікроорганізмів до антимікробних препаратів – методом серійних послідовних двократних розведень у рідкому поживному середовищі, визначаючи мінімальні концентрації антимікробних засобів відповідно до наказу МОЗ України №167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». Мікробостатичну дію декаметоксину (ДКС), та інших антисептиків оцінювали за мінімальною інгібуючою концентрацією, їх

мікробіцидні властивості оцінювали за мінімальною бактерицидною концентрацією (МБцК), вираженою в мкг/мл. Бактерицидну дію протимікробних засобів на зрілі біоплівки бактерій визначали за мінімальною концентрацією, що призводить до ерадикації біоплівки. Для цього штучні полівінілхлоридні тест-об'єкти зі сформованою біоплівкою вносили у пробірки з послідовними розведеннями антибіотика. Через 24 години перебування у розчині антибіотика тест-об'єкти піддавали обробці ультразвуком при частоті 42 Hz в ультразвуковій ванні CODYSON CD-7810A та на твердому поживному середовищі виявляли життєздатні КУО.

Вивчення біоплівкоутворюючих властивостей клінічних ізолятів визначали за допомогою спектрофотометричного методу за G.D. Christensen (MtP-test «microtiter plate test»), які оцінювали за ступенем поглинання барвника в одиницях оптичної щільності спектрофотометрично (довжина хвилі 620 нм).

Для дослідження генетичного матеріалу культури направлялись до репозиторію полірезистентних мікроорганізмів Військового інституту досліджень ім. Волтера Ріда, США. Обмін культурами проводився в рамках «Згоди на подальший розвиток співробітництва та передачу матеріалів під час спільного дослідження» № W81XWH-17-0315 між Вінницьким національним медичним університетом ім. М. І. Пирогова та Військовим інститутом досліджень ім. Волтера Ріда, США. Для аналізу було надіслано 37 штамів, що виділені у Вінниці, Харкові та Дніпрі. Серед них *A. baumannii*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *Enterococcus* spp. Дослідження проводилось методом сіквенування «нового покоління» (next-generation sequencing) на платформі Applied biosystems/life technologies (SOLiD system). Порівняння виділених нуклеотидних послідовностей проводилось по базі GenBank® у Національному центрі біотехнології та інформації (National Center for Biotechnology Information). Для порівняння використовували технологію BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Методом мультилокусного сіквенування встановлювали належність клінічних ізолятів до глобальних типів послідовностей. За даними порівняння клінічних ізолятів методом одонуклеотидного поліморфізму встановлювали епідеміологічні та філогенетичні зв'язки між виділеними з ран мікроорганізмами.

З метою створення системи локальної доставки декаметоксину, були виготовлені 7 зразків полімерної антимікробної композиції. Композиції № I, II, III, IV, V являли собою суміш поліметилметакрилату, біокомпозиту Синтекість варіант БКС11 та декаметоксину у різному співвідношенні. Основу композицій VI та VII становив цинк-фосфатний цемент. На зразках розміром 0,5×0,5 см, вагою 0,6±0,02 г вивчалась тривалість збереження антимікробних властивостей, стійкість до колонізації, вплив антисептичних речовин, що входять до складу зразків на мікроорганізми в оточуючому середовищі, ефективність взаємної потенціюючої дії антибіотиків у присутності зразків з декаметоксином,

здатність впливати на мікроорганізми у складі біоплівки. Кінетику виділення декаметоксину з антисептичних бусин вивчали в умовах відмивання зразків ізотонічним розчином хлориду натрію методом «колодязів». Експериментальне вивчення ефективності антисептичної композиції для лікування септичних ран проводили на моделі гострої інфікованої рани у кролів (Сич А.С та ін., 2015) у нашій модифікації.

Для вивчення впливу компонентів бактеріальних біоплівки на ранозагоєння використовували модель сплінт – ран, що розроблена К. Ganesh et al, 2015 на 18 щурах. В рани тварин щоденно вносили фільтрат, збагачений компонентами біоплівкового матриксу. Для отримання такого фільтрату зрілі біоплівки культури *A. baumannii* сформовані на тест-об'єктах дезінтегрували ультразвуковим кавітатором Söring Sonoca 400 у 0,85 % розчині хлориду натрію. Даний завис фільтрували через бактеріальний фільтр «Стерифікс», В.Враун з діаметром пор 0,2 мкм. Відфільтровувались фізіологічноактивні бактерії, а отриманий фільтрат висівали на щільне поживне середовище для контролю стерильності.

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартних пакетів програм “STATISTICA+” та “Microsoft Excel 2010”. У всіх процедурах статистичного аналізу розраховувався досягнутий рівень значимості (p), Результати вважали достовірними при значеннях $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. У результаті проведених досліджень встановлено, що в етіологічній структурі інфекційно-запальних ускладнень бойових поранень відбуваються динамічні зміни домінуючої мікрофлори, які залежать від часу, що минув з моменту поранення (рис. 1).

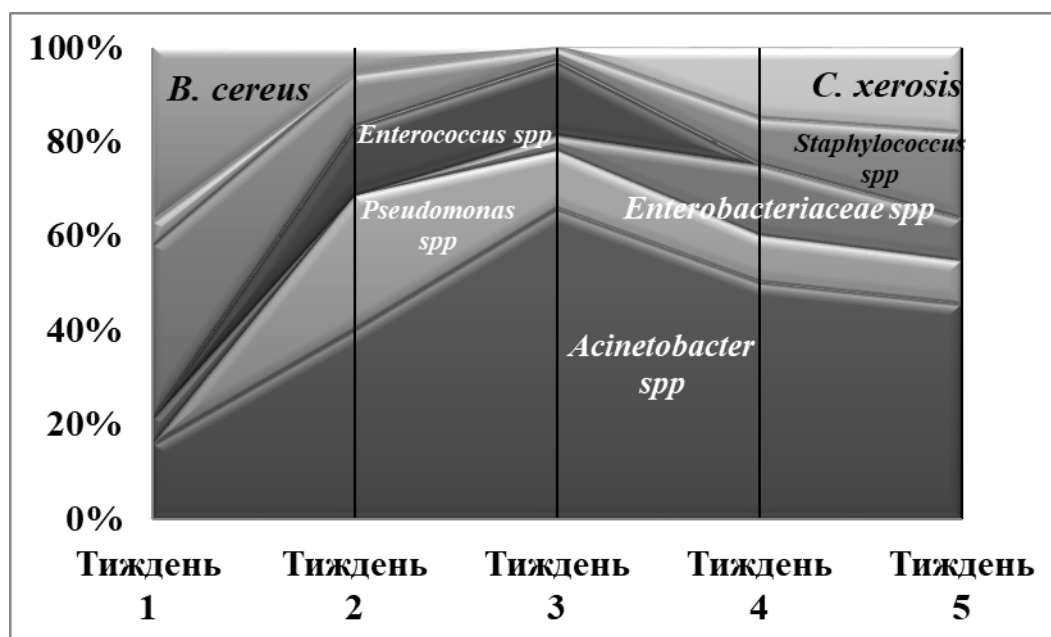


Рис. 1. Динаміка видового складу мікрофлори поранень залежно від терміну, що минув після травми. ВМКЦ м. Вінниця

Первинно в рану потрапляють переважно грампозитивні мікроорганізми, які починаючи з першого тижня замінюються грамнегативними паличками, які на третьому тижні становлять 85,7 % позитивних висівів та в більшості відносяться до нозокоміальної мікробіоти. Найчастіше (78,6 % випадків) висівались неферментуючі палички, чверть штамів з яких належало до роду – *Pseudomonas*, решта – *Acinetobacter*. У цей період зростає частота виділення з ран асоціацій мікроорганізмів з 10,5 % до 21,4 %, які складаються з акінетобактерій і клебсієл або неферментуючих паличок та ентерококів.

Дослідженнями чутливості до антибіотиків встановлено, що частка грамнегативних паличок віднесених до полірезистентних бактерій (MDR – Multidrug-resistant (полірезистентні бактерії) або бактерій з розширеною резистентністю (XDR – extensively drug-resistant (бактерії з розширеною резистентністю) сягає від 75,0 % до 100 % ізолятів без значимої різниці ($p > 0,05$) між різними шпиталями. Найбільше XDR ізолятів виділяється починаючи з другого тижня від поранення – 71,4 % XDR, на III тижні – 96,9 %, на IV – 70,0 %, на V – 54,5 %. Серед ентеробактерій, *P. aeruginosa* та *Acinetobacter* spp. частка карбапенемрезистентних ізолятів становила від 71,0 % до 100 % у ВМКЦ м. Вінниці і м. Львова та на рівні 25,0 – 48,0 % у Головному Військово-медичному клінічному центрі м. Київ (рис. 2).

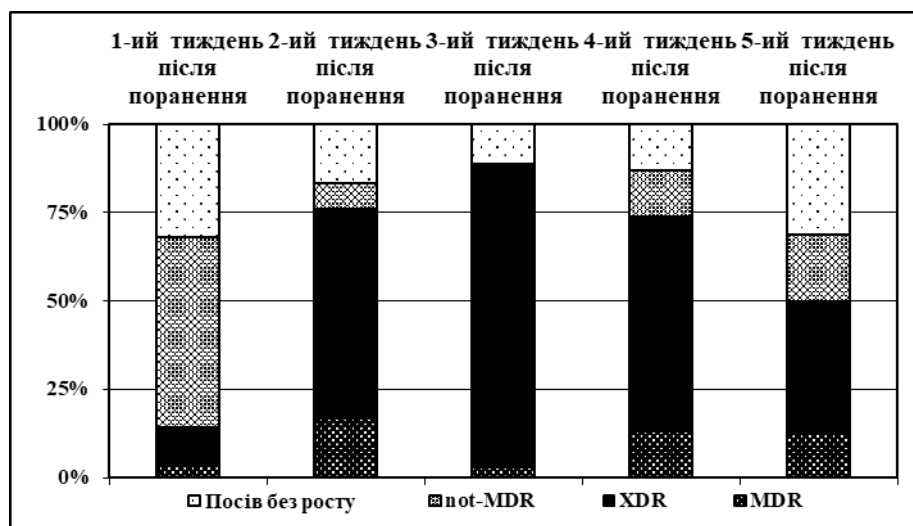


Рис. 2. Розподіл мікроорганізмів з різним профілем антибіотикорезистентності, залежно від часу, що минув після поранення за даними спостережень у ВМКЦ м. Вінниця

По відношенню до грамнегативних паличок фторхінолони та β -лактами втратили свою ефективність. Частка резистентних до них клінічних ізолятів коливалась у межах 56,0 – 100 % по всім шпиталям без значимих розбіжностей

($p > 0,05$). Частка стійких клінічних ізолятів неферментуючих грамнегативних бактерій до коломіцину, та ентеробактерій стійких до тігецикліну не перевищувала 25,0 %. Розповсюдженість полірезистентних клінічних ізолятів серед коагулазонегативних стафілококів виявилась на рівні 36,4 %, а серед *S. aureus* – по різних ВМКЦ коливалась у межах 40,0 – 67,0 % ($p > 0,05$). Частота виділення метицилінрезистентних ізолятів стафілококів встановлена від 20,0 % у ВМКЦ м. Вінниці і до максимального рівня 67,0 % у ВМКЦ м. Львів. Ефективність щодо стафілококів гатіфлоксацину та моксіфлоксацину підтверджено на рівні 70,0-100 % виділених культур. Стафілококів та ентерококів стійких до ванкоміцину не виявлено.

Методом повного геномного секвенування встановлено, що стійкість до антибіотиків обумовлена наявністю досить великого переліку генетично детермінованих механізмів. У ізолятів акінетобактерій було виявлено 28 генів резистентності, більшість яких кодує бета-лактамази або ензими, що модифікують аміноглікозиди. У акінетобактерій виявлені гени бета-лактамаз класів *blaTEM-1B* та *blaOXA-2*, *blaOXA-24*, *blaPER-1*. Стійкість до карбапенемів у акінетобактерій була асоційована з генами *blaOXA-23* та *blaOXA-24*. У культур *P. aeruginosa* виявлено 24 різних гени, відповідальних за резистентність до антибіотиків, включаючи ген карбапенемази *blaIMP-34* та стійкості до фосфоміцину – *fosA*. Стійкість до аміноглікозидів обумовлювалась кількома генами: *aac(6)Ib ct*, *aac(6)Ib*; *aacA4*; *aadA1*; *aadB*; *aph(3)Ic*; *aph(3)IIb*; *aph(3)VIa*; *aph(3)VIb*; *aph(6)-1d*; так само як і до β -лактамів: *blaIMP-34*; *blaOXA-10*; *blaOXA-50*; *blaPAO*; *blaPER-4*; *blaVEB-1*. У досліджених клінічних ізолятів *E. cloacae* виявили присутність 18 різних генів стійкості, всі ізоляти містили глобально розповсюджений ген бета-лактамази розширеного спектру *blaCTX-M-15* та лише у одного ізоляту – ген *blaOXA-48*. Виділені клінічні ізоляти *K. pneumoniae* виявилися також продуцентами карбапенемаз (*blaOXA-48*). Ген метицилінорезистентності *tesA* виявлено як в ізолятів *S. aureus* так і в коагулазонегативних стафілококів.

Встановлено, що серед мікроорганізмів, які виділяються з бойових ран, з числа 112 досліджених ізолятів 71 (63,3 %) були визнані позитивними за ознакою біоплівкоутворення. Позитивними за цією ознакою виявились усі досліджені ізоляти псевдомонад, 73 % ізоляти акінетобактерій, 40 % культур ентеробактерії, 41,6 % стафілококів, що не коагулюють плазму, та третина виділених *E. faecalis*. Оптична щільність біоплівки була найбільшою в *P. aeruginosa* і становила $0,31 \pm 0,15$ (M \pm SD), *Acinetobacter* spp. – $0,13 \pm 0,12$; *E. cloacae* – $0,06 \pm 0,08$; для *K. pneumoniae* – $0,06 \pm 0,07$; та *E. coli* – $0,05 \pm 0,06$; *Enterococcus* spp. – $0,06 \pm 0,09$; для *Staphylococcus* spp. – $0,036 \pm 0,042$.

Вивчення впливу властивості біоплівкоутворення на динаміку кількості імунокомпетентних клітин макроорганізму та гістологічне дослідження тканин ранового ложа, що загоювались під впливом компонентів біоплівкового

матриксу *A. baumannii* встановило, що вплив компонентів бактеріальних біоплівки, які звільнені від фізіологічно активних клітин, переважно носить імуносупресивний характер, що проявляється сповільненням розвитку специфічного протимікробного захисту. Запальна відповідь макроорганізму, певно за рахунок імуносупресивних властивостей біоплівкових складових, не має надмірної експресії і обмежується першою фазою ранового процесу. Перехід бактеріальної культури з планктонної форми у біоплівку робить її менш помітною для імунної системи та менше подразнює прозапальні клітини неспецифічного захисту. Ймовірно саме ця перебудова фенотипу бактеріальних клітин є проявом симбіозу, що дозволяє виживати мікроорганізмам та чинить регуляторний вплив на запальні процеси, сприяючи переходу запальної фази ранового процесу у проліферативну.

За результатами вивчення фенотипів резистентності і шляхом генетичного аналізу встановлено, що при організації медичної допомоги у сучасному збройному конфлікті, створюються умови для швидкого поширення госпітальних полірезистентних штамів мікроорганізмів, що тривало виділяються в певному шпиталі. Наприклад, як штами *P. aeruginosa* № 143 та № 144, що виділялись в одному шпиталі в різні періоди (рис. 3). Більш того, разом з пораненими, мікроорганізми переміщуються до інших лікувальних закладів та займають нові ареали, як відбулось із ізолятами клебсієл №№ 086 та 131, які виділені від поранених, що лікувались в різних шпиталях.

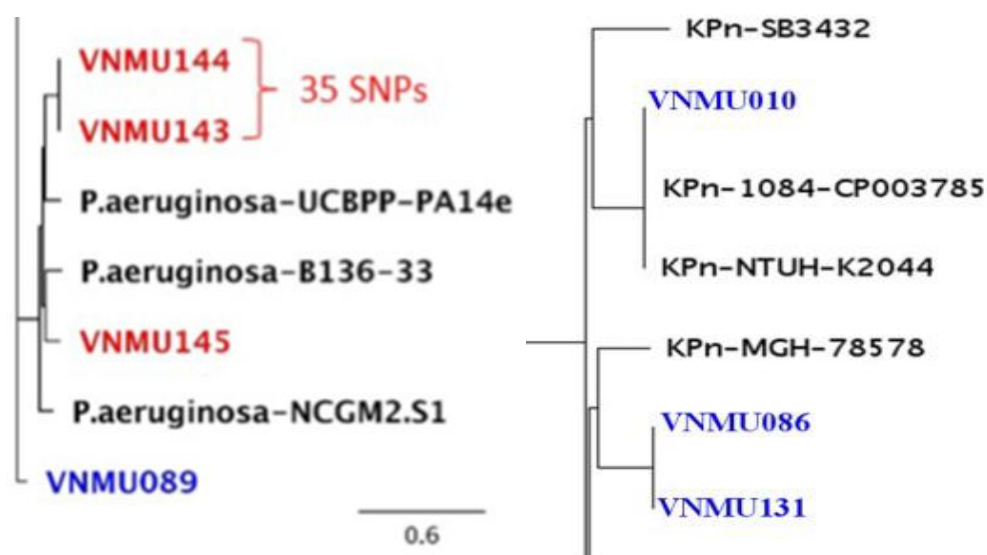


Рис. 3. Дендрограми за даними парного порівняння методом одонуклеотидного поліморфізму клінічних ізолятів *P. aeruginosa* та *K. pneumoniae* з інфікованих бойових поранень. Довжина гілок є показником спорідненості культур. Маркер масштабу репрезентує кількість мутацій на 1000 нуклеотидних основ.

Схожість біологічних характеристик ранових ізолятів бактерій, виділених від пацієнтів шпиталів, розміщених у географічно різних регіонах країни, дозволяє рекомендувати уніфіковані заходи антибактеріальної профілактики та терапії інфекційних ускладнень у масштабах усього лікувально-евакуаційного ланцюга без концентрації уваги на локальних особливостях резистентності мікрофлори до антибіотиків у межах окремих військових шпиталів.

Мікробіологічно обґрунтована схема подолання антибіотикорезистентності шляхом системної антибіотикотерапії комбінованої з тривалим локальним введенням декаметоксину у вогнище гнійно-запальних ранових ускладнень. У лабораторних дослідженнях показано, що в присутності суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину відновлюється бактерицидний вплив антибіотиків на стійкі до їх дії варіанти неферментуючих грамнегативних бактерій та зменшується мінімальна бактерицидна концентрація карбапенемів (у 8 – 16 разів), амікацину (у 4 – 16 разів), цефалоспоринів II–III поколінь (у 4 – 16 разів) (табл. 1).

Таблиця 1

Зміна МБцК антибіотиків у відношенні 12 резистентних штамів *A. baumannii*, у присутності суббактеріостатичних концентрацій (0,8-25 мкг/мл) декаметоксину

Анти-бактеріальний препарат	МБцК (мкг/мл)	Кратність зменшення МБцК у присутності декаметоксину (рази)
Меропенем	250-500	8-16
Меропенем+ДКС	15,6-64 †	
Хлорамфенікол	312-625	4-8
Хлорамфенікол+ДКС	78	
Цефтріаксон	5000	4-8
Цефтріаксон+ДКС	625-1250 †	
Цефепім	250-500	4-16
Цефепім+ДКС	32-62,5 †	
Цефотаксим	2500-5000	4-16
Цефотаксим+ДКС	312-625 †	

Примітка. † – різниця між групою ізолюваного використання антибіотика та його комбінування з декаметоксином достовірна.

Статистично достовірно ($p < 0,05$) встановлена здатність колістину, меропенему, амікацину та ципрофлоксацину у клінічно досяжних концентраціях при 24 годинному потенціюванні суббактеріостатичними концентраціями декаметоксину згубно впливати на ентеробактерії,

P. aeruginosa та *Acinetobacter* spp. у зрілих біоплівках. Збільшення експозиції сполученої дії ДКС та антибіотиків до 48 год дозволило досягти повного знищення плівкових форм будь-якого з 12 досліджених штамів акінетобактерій клінічно досяжними концентраціями меропенему та ципрофлоксацину. Статистично достовірно ($p < 0,05$) зростає ефективність дії амікацину та колістину на акінетобактерії та меропенему і амікацину на псевдомонади. Схожі результати одержано при дослідженні впливу меропенему і декаметоксину на плівкові форми карбапенемрезистентних бактерій роду *Enterobacter*.

У процесі проведення протимікробної терапії ранової інфекції локальне застосування ДКС може позитивно впливати на ефективність системного застосування антибіотиків. Враховуючи, що тривалість контакту антисептика з ранною під час хірургічної санації дуже коротка, була розроблена система тривалої локальної доставки декаметоксину на основі полімерної протимікробної композиції.

Запропонована депо-форма ДКС (композиція VI), здатна підтримувати концентрацію антисептика на рівні $\frac{1}{2}$ від початкової – 79,6-65,6 мкг/мл з часом напіввиведення ($T_{1/2}$) 2,8-3 доби (рис. 4).

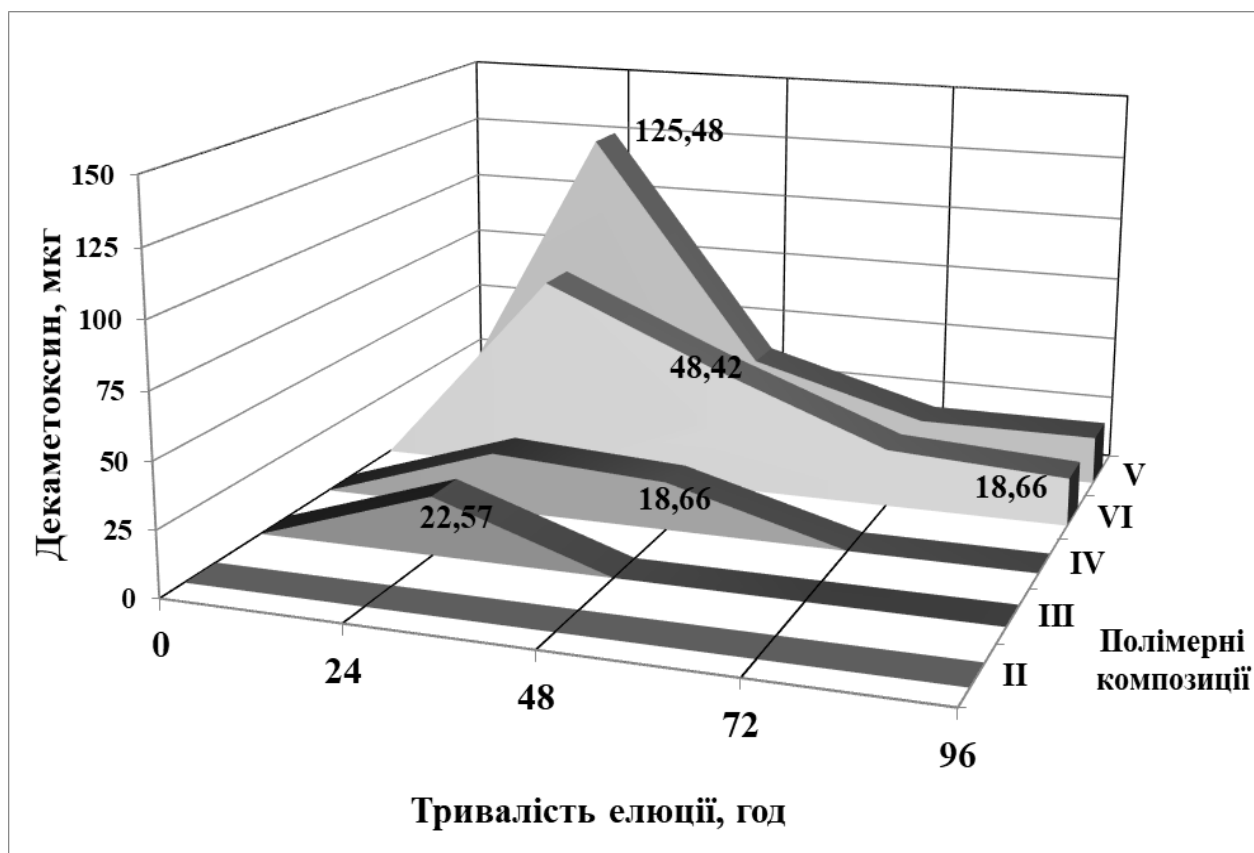


Рис. 4. Щодобова екскреція декаметоксину в умовах вимивання

Фармакокінетика вивільнення ДКС з розробленої полімерної композиції описується поліноміальним рівнянням:

$$[\text{Концентрація декаметоксину}] = 10,7x^3 - 107,7x^2 + 319,1x - 220,8$$

де x – кількість діб, протягом яких відбувалось вивільнення декаметоксину з антисептичних бусин (коефіцієнт апроксимації рівняння $R^2 = 0,97$).

Доведена потенціуюча дія ДКС, що вивільнюється зі зразків полімерної композиції на антибіотики для знищення біоплівкових форм бактерій (табл. 2), здатність підтримувати антисептичний режим в оточуючому середовищі, навіть за несприятливих умов при білковому навантаженні.

Таблиця 2

Ефективність потенціювання бактерицидного впливу антибіотиків декаметоксином, що виділяється з депо-форм у відношенні *A. baumannii* (12 клінічних ізолятів)

Антибактеріальний препарат	Планктонна форма	Біоплівкова форма	
	24 години	24 години	48 годин
	Кількість штамів, що виявили здатність до росту після впливу протимікробного засобу.		
Меропенем	10	12	12
Меропенем в присутності депо-форми	2†	2†	3†
Амікацин	8	12	12
Амікацин в присутності депо-форми	0†	4†	2†
Ципрофлоксацин	9	12	12
Ципрофлоксацин в присутності депо-форми	5	5†	3†
Колістин	2	10	11
Колістин в присутності депо-форми	0	2†	2†

Примітка. † - різниця між групою ізолюваного використання антибіотика та його комбінування з депо-формою декаметоксину достовірна.

У досліді на тваринах встановлено, що взірці розробленої композиції можуть безпечно імплантуватись у ранове ложе, прискорюють очищення рани та завершення фази запалення, знижують мікробне навантаження. При комбінованому застосуванні депо-форми ДКС разом з системним введенням амікацину вдалося досягнути повного вивільнення рани від резистентних штамів *P. aeruginosa* та *S. aureus* (рис. 5). Оптимальні режими та періоди ранового процесу для застосування депо-форми – це перші три-п'ять діб (фаза запалення) із заміною кожні три доби.

Вперше вивчено зміни імунологічної реактивності у контингенту з бойовими пораненнями за показниками клінічного обстеження крові, показником який є доступним лікарям у воєнно-польових умовах. Встановлено, що протягом 21 доби загоєння ран відбувається на фоні підвищеної абсолютної кількості імунокомпетентних клітин. У цей період кількість лейкоцитів залишається підвищеною у 1,6 рази, нейтрофільних лейкоцитів – у 1,53 рази в тому числі сегментоядерних нейтрофільних лейкоцитів – у 1,29 рази, лімфоцитів – у 1,66 рази, моноцитів – у 1,77 рази в порівнянні з практично здоровими особами ($p < 0,05$). Вперше розраховано прогностичне значення нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення щодо тривалості ранозагоювального процесу. Встановлено порогове значення НЛС на рівні 2,49, при перевищенні якого, необхідно передбачати тривалість ранозагоєння понад 21 добу.

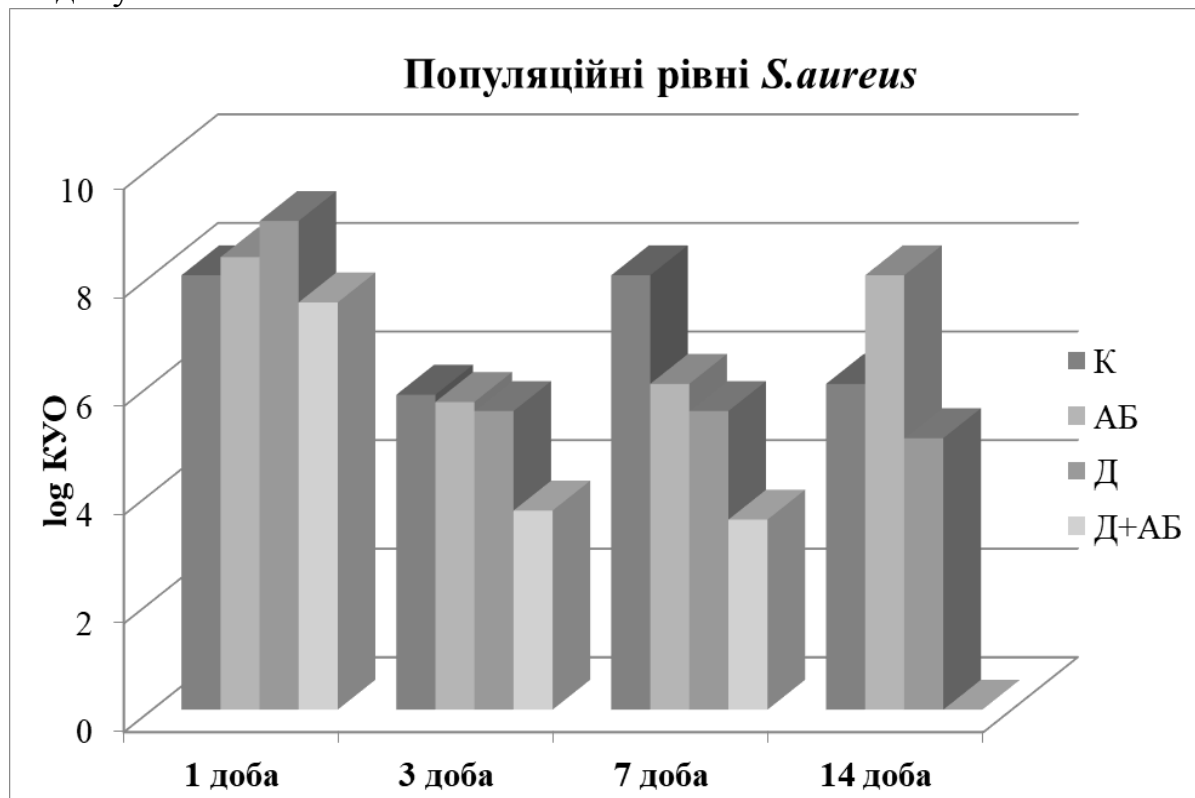


Рис. 5. Результати бактеріологічного обстеження ран під час лікування з комбінованим застосуванням депо форми декаметоксину разом з системним введенням амікацину.

На основі даних про чутливість до антибіотиків у клінічних ізолятів, що виділені у ВМКЦ Києва, Львова, Вінниці, Харкова та закономірність поширення чинників інфекційних ускладнень у масштабі всього евакуаційного ланцюга медичної служби Збройних Сил України, вперше розроблені рекомендації, щодо лікування септичних ускладнень бойових ран за принципами раціональної антибіотикотерапії. Встановлені ефективні препарати та їх комбінації, покази для призначення та заміни, визначені основні організаційні та контролюючі заходи в масштабах лікувальних закладів, що забезпечать збереження ефективності антибактеріальних препаратів.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено вирішення важливої науково-практичної проблеми – розробки сучасної концепції ефективного лікування гнійно-запальних ускладнень вогнепальних та мінно-вибухових бойових ран на основі результатів мікробіологічного та епідеміологічного моніторингу, дослідження біологічних властивостей бактерій, що зумовили інфекційні ускладнення у поранених у збройному конфлікті на сході України. Мікробіологічно обґрунтовані підходи до оптимального вибору антибактеріальних препаратів, методи комбінованої системної та локальної протимікробної терапії інфікованих ран з урахуванням антибіотикорезистентності сучасних збудників запальних процесів.

1. Видовий склад мікроорганізмів, які виділяються із бойових ран, залежить від часу, що минув після поранення. У ранні терміни після поранення у спектрі переважають грампозитивні коки (81,3 %), які на другому-третьому тижні заміщуються грамнегативними бактеріями (85,7 %). На етапі лікування у спеціалізованих шпиталях з 65,0 – 79,0 % ран виділяються грамнегативні бактерії з переважанням грамнегативних паличок родів *Acinetobacter* та *Pseudomonas* (від 26,7 % до 58,0 % у різних лікувальних закладах) та мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* родів *Enterobacter*, *Klebsiella* та *Escherichia* (від 40,3 % до 42,4 % у різних лікувальних закладах). Частка грампозитивних коків становить від 22,0 % до 39,0 %.

2. Мікрофлора бойових поранень у сучасному конфлікті в Україні характеризується множинною стійкістю до хіміотерапевтичних препаратів. З числа ранових ізолятів, отриманих на першому тижні після поранення, 15,8 % належали до ізолятів з розширеним спектром резистентності. На другому – 71,4 %, на III тижні – 96,9 %, на IV – 70,0 %, на V – 54,5 %. У різних шпиталях до цефалоспоринів виявляли стійкість від 69,0 % до 100 % виділених грамнегативних паличок, до карбапенемів – від 25,0 % до 100 %, до фторхінолонів – 56,0 – 100 %, до цефоперазону захищеного сульбактамом 13,0 – 50 %, до коломіцину не більше 25,0%. Доля ентеробактерій стійких до тігецикліну не перевищує 25,0 %. Доля метицилінрезистентних ізолятів

стафілококів визначена на рівні 20,0 – 67,0 %. Не виявлено стафілококів та ентерококів стійких до ванкоміцину.

3. За результатами повного геномного секвенування встановлено, що фенотипові прояви множинної стійкості до антибактеріальних препаратів обумовлені наявністю у виділених бактерій великого переліку генетично детермінованих механізмів. Встановлені генетичні механізми відповідали визначеним фенотипам резистентності. У ізолятів роду *Acinetobacter* було виявлено 28 генів резистентності, більшість яких кодує бета-лактамази та ензими, що модифікують аміноглікозиди. У культур *P. aeruginosa* виявлено 24 різних гени, включаючи карбапенемази, β -лактамази та гени стійкості до аміноглікозидів. У клінічних ізолятів *E. cloacae* виявили присутність 18 різних генів стійкості, у *K. pneumoniae* – 17. У коагулазонегативних стафілококів виявлено 11 генів резистентності та 7 генів у культур *S. aureus*, у тому числі і ген метицилінорезистентності. Наявність декількох генів стійкості, що знаходяться в стані експресії, у геномі кожного виділеного штаму, пояснює феномен явища асоційованої резистентності до антибіотиків з різним механізмом протимікробної дії.

4. Результати фенотипового аналізу та мультилокусного секвенування бактерій, виділених від поранених, що проходили лікування у географічно віддалених лікувальних закладах, свідчать про те, що бойові рани, одержані під час військових подій на сході України 2014-2017 рр., контамінувались спорідненими клональними популяціями бактерій, які мали спільне джерело походження і циркулювали в середовищі на шляхах лікувально-евакуаційного ланцюга. Схожість біологічних характеристик ранових ізолятів бактерій, виділених від пацієнтів шпиталів, розміщених у географічно різних регіонах країни, дозволяє рекомендувати уніфіковані заходи антибактеріальної профілактики та терапії інфекційних ускладнень у масштабах усього лікувально-евакуаційного ланцюга без концентрації уваги на локальних особливостях резистентності мікрофлори до антибіотиків у межах окремих військових шпиталів.

5. Мікроорганізми, які виділяються з бойових ран, у 63,3 % виявляють здатність до плівкоутворення. Найбільше біоплівкоутворювачів виявилось серед *Pseudomonas* spp. (100 %), другими за частотою наявності цієї властивості виявились *Acinetobacter* spp. (73,0 %). Під впливом негативного тиску, що широко застосовується в лікуванні бойових поранень, мікроорганізми родів *Acinetobacter*, *Pseudomonas* та родини *Enterobacteriaceae* змінюють свій фенотип, активуючи біоплівкоутворення та збільшуючи щільність утвореної біоплівки на 30,0 – 60,0 % ($p < 0,05$). Біоплівкоутворення та резистентність до антибіотиків є окремими, не пов'язаними біологічними властивостями, що забезпечують колонізаційну здатність бактерій. Перебудова фенотипу бактерій з планктонної форми в біоплівкову в процесі колонізації ранової поверхні

зменшує антигенну стимуляцію прозапальних клітин. Це сприяє вчасному припиненню фази запалення та переходу до фази регенерації. Виявлені феномени створюють передумови для хронізації інфекційного процесу.

6. Співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів у периферичній крові поранених має прогностичне значення щодо розвитку інфекційних ускладнень та передбачення тривалості процесу загоєння ран. При значенні цього показника 2,49 та вище тривалість закриття ран ймовірно перевищить 21 добу ($p < 0,05$), що слід враховувати при виборі лікувальних заходів.

7. Клінічні ізоляти мікроорганізмів, що ускладнюють перебіг бойових поранень у сучасних умовах, виявляють високий рівень чутливості до антисептика декаметоксину. У присутності суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину зменшується мінімальна бактерицидна концентрація карбапенемів (в 8-16 разів), амікацину (в 4-16 разів), цефалоспоринів II–III поколінь (в 4-16 разів) у відношенні стійких до їх дії штамів неферментуючих грамнегативних бактерій. Комбінований вплив суббактеріостатичних концентрацій декаметоксину та клінічно досяжних концентрацій колістину, меропенему, амікацину або ципрофлоксацину забезпечує ефективне знищення ентеробактерій, *P. aeruginosa* та *Acinetobacter* spp. у зрілих біоплівках.

8. Депо-форми декаметоксину, що виготовлені з полімерної композиції на основі цинк-фосфатного цементу, 10 мг декаметоксину у речовині Синтекість БКС 11 в своєму складі, здатні до вивільнення у рідке оточуюче середовище $167,1 \pm 16,8$ мкг антисептика протягом 4-х діб, що не лише попереджує адгезію, але й забезпечує бактерицидну дію на бактерії, які відносяться до основних чинників інфекційних ускладнень бойових поранень. Застосування запропонованої полімерної системи локального виділення декаметоксину в рановому ложі при інфекційних ускладненнях у поєднанні з системною антибактеріальною терапією веде до повної ерадикації бактерій стійких до антибіотиків, прискорює перехід у фазу регенерації та закриття ранового дефекту. Оптимальним періодом для використання запропонованої полімерної депо-форми декаметоксину є перші три-п'ять діб (фаза запалення) розвитку ранового процесу.

9. Для ефективної реалізації заходів профілактики та раціональної антимікробної терапії інфекційних ускладнень бойових поранень необхідно враховувати, що інфікування бойових ран відбувається переважно госпітальною флорою під час етапного лікування та евакуації поранених. Первинне призначення антибіотика повинне враховувати прогнозовану динаміку змін домінуючої мікробіоти у рановому ложі, а зміна антибактеріальної терапії проводиться на основі результатів динамічного моніторингу антибіотикорезистентності мікробіоти, відповідно до чітко визначеного переліку препаратів стартової антибіотикотерапії та антибіотиків резерву.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

На основі проведених нами досліджень розроблено Організаційно-методичні вказівки «Організація надання медичної допомоги військовослужбовцям із бойовими пораненнями кінцівок та м'яких тканин: роль етіотропної терапії», схвалені Вченою радою Української військово-медичної академії (протокол № 199 від 01.10.2018 р.), впровадженні в практичну діяльність лікувальних закладів системи Головного військово-медичного управління ЗСУ.

У процесі лікування бойових поранень необхідно дотримуватись наступних основних положень.

1. Антибіотикопрофілактика показана для бойових поранень кінцівок без виключень. Антибіотикопрофілактика проводиться незалежно від потреби у хірургічному втручанні. Поранені, які потребують хірургічного лікування, повинні отримати профілактичну дозу препарату в межах 2 годин від поранення.

Схеми антибіотикопрофілактики ранової інфекції при різних пораненнях:

Поранення	Варіанти профілактики
Множинні поранення м'яких тканин	Варіант 1: Цефуроксим 1,5 г в/в однократно
	Варіант 2: Цефазолін 1 г в/в, потім через 8 год
Множинні поранення м'яких тканин з пошкодженням магістральних судин, кісток	Варіант 1: Цефокситин 2 г в/в, потім 1 г кожні 8 год (до 2-х діб)
	Варіант 2: Кліндаміцин 600 мг в/в кожні 6 год + гентаміцин 1,5 мг/кг в/в кожні 8 год максимально 2 доби

2. Антибактеріальна терапія інфекційних ускладнень показана при появі симптомів ранової інфекції на фоні прийому антибіотикопрофілактики протягом 2 діб. Така динаміка ранового процесу у пораненого, що перебуває більше 5 діб у хірургічному стаціонарі, може свідчити про колонізацію ранової поверхні госпітальною антибіотикорезистентною мікрофлорою. Схеми антибактеріальної терапії ранових інфекційних ускладнень:

Варіант	Комбінація препаратів	Дозування
1	Меропенем + Амікацин	1000 мг в/в кожні 8 год 500 мг в/в кожні 8 годин

На рівні госпітальної адміністрації необхідно затвердити практику перегляду вірності та доцільності емпіричної антибактеріальної терапії через 48 годин від її початку. Обов'язково враховують результати бактеріологічного обстеження рани. У випадку виявлення резистентних до антибіотиків варіантів псевдомонад або акінетобактерій схему антибіотикотерапії слід замінити на один із варіантів:

Варіанти антибіотикотерапії ранової інфекції при виявленні мікроорганізмів родів *Acinetobacter*, *Pseudomonas*:

Варіант	Комбінація препаратів	Дозування
1	Цефоперазон/сульбактам+	1000мг/1000/мг в/в кожні 12 год.
	Амікацин	500 мг в/в кожні 8 годин
2	Колістин+	2,5-5 мг/кг/день в 2-4 рівних дозах
	Меропенем	1000 мг в/в кожні 8 год

3. Для лікування ранових інфекційних ускладнень спричинених резистентними збудниками ефективною стратегією є локальне застосування в рані полімерної композиції декаметоксину, на основі цину-фосфатного цементу з 10 мг декаметоксину у пористій речовині Синтекість БКС 11, у поєднанні з системною антибактеріальною терапією. З метою уникнення гальмування репаративних процесів оптимальним періодом для використання запропонованої полімерної депо-форми декаметоксину є перші три-п'ять діб (фаза запалення) розвитку ранового процесу.

4. З метою прогнозування тривалості та динамічного спостереження за ранозагоєнням рекомендовано використовувати співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів периферійної крові, що розраховується за формулою:

$$\frac{ВН\%}{ВЛі\%},$$

де ВН% – відносна кількість сегментоядерних нейтрофілів у периферійній крові у відсотках, ВЛі% – відносна кількість лімфоцитів у периферійній крові у відсотках. Встановлено порогове значення нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення на рівні 2,49, при перевищенні якого, необхідно передбачати тривалість ранозагоєння понад 21 добу ($p < 0,05$).

5. З метою попередження поширення та стимуляції стійкості бактерій до антибіотиків у межах лікувального закладу необхідно обмежити використання певних антибактеріальних препаратів залежно від їх спектру дії,

вартості та токсичності. З урахуванням встановлених у роботі фенотипів резистентності виділених контамінант, антибактеріальні препарати слід розділити на наступні групи та встановити серед лікарів ієрархію прав по їх призначенню:

Перелік обмежених антибактеріальних препаратів, та обмеження щодо їх застосування:

Категорія	Порядок погодження для призначення	Антибактеріальні препарати
Суворо обмежені	Потребують погодження відповідальної особи	Колістин, Тігециклін, Лінезолід, Даптоміцин, Фосфоміцин
Обмежені	Призначаються з дозволу керівника лікувального підрозділу	Амікацин, Цефепім, Цефоперазон/сульбактам, Цефтазидим, Ертапенем, Іміпенем, Меропенем, Піперацилін/тазобактам, Моксифлоксацин, Рифампіцин, Тікарцилін/клавуланат, Тобраміцин, Тейкопланін, Ванкоміцин
Необмежені	Можуть призначатись кожним лікарем	Бензилпеніцилін, Цефазолін, Цефотаксим, Метронідазол, Гентаміцин

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Kovalchuk V. P., Kondratiuk V. M. Bacterial flora of combat wounds from eastern Ukraine and time-specified changes of bacterial recovery during treatment in Ukrainian military hospital. *BMC Research Notes*. 2017. № 10. P. 1–7. (Особистий внесок – проведення посівів ран, ідентифікація мікроорганізмів, аналіз та узагальнення результатів, переклад та написання статті)
2. Кондратюк В. М. Характеристика антибіотикорезистентності мікрофлори бойових (вогнепальних та мінно–вибухових) ран кінцівок, одержаних в ході антитерористичної операції на сході України. *Клінічна хірургія*. 2016. № 4. С. 50–53.
3. Modifying ability for biofilm formation by clinical isolates of gram negative microorganisms under negative pressure conditions in vitro / V. Kovalchuk, V. Kondratiuk, O. Kondratiuk. *Croatian Journal of Infection*. 2017. Vol. 4. P. 112–118. (Особистий внесок – відтворення біоплівки, відпрацювання методики та постановка експерименту, статистичний аналіз, написання статті).
4. Характеристика здатності до утворення біоплівки мікрофлори

вогнепальних та мінно-вибухових ран кінцівок / **Кондратюк В. М.**, Ковальчук В. П., Безулий М. М., Фомін О. О. *Biomedical and Biosocial Anthropology*. 2016. № 26. С. 20–23. (Особистий внесок – визначення здатності мікроорганізмів до утворення біоплівки, розробка лабораторної методики, аналіз та узагальнення, написання статті).

5. **Кондратюк В. М.** Оцінка резистентності до антимікробних препаратів штамів *Acinetobacter baumannii* та *Pseudomonas aeruginosa*, що контамінують бойові поранення кінцівок. *Травма*. 2017. Т. 18, №1. С. 68–73.

6. **Кондратюк В. М.** Вплив антибактеріальної терапії на появу резистентних мікроорганізмів серед видового складу мікробної флори, що виділяється з бойових ран кінцівок, в процесі лікування. Проблеми військової охорони здоров'я : зб. наук. праць Української військово-медичної академії. Київ, 2016. Вип. 46. С. 321–329.

7. Ковальчук В. П., **Кондратюк В. М.** Динаміка видового складу мікрофлори бойових (вогнепальних та мінно-вибухових) ран кінцівок, одержаних під час антитерористичної операції на сході України у 2014 році. *Хірургія України*. 2016. № 2. С. 13–18. (Особистий внесок – проведення посівів ран, ідентифікація мікроорганізмів, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

8. **Кондратюк В. М.** Антимікробна дія антисептичних препаратів на клінічні штами мікроорганізмів, що контамінують бойові поранення кінцівок. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017. № 6 (8). С. 136–140.

9. **Кондратюк В. М.**, Сидорчук Л. І. Адаптаційно-компенсаторне напруження та клітинна реактивність організму у поранених першого тижня мінно-вибухової травми. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2016. № 3 (57). С. 59–63. (Особистий внесок – аналіз медичної документації поранених, розрахунок та узагальнення динамічних змін показників клітинної реактивності організму, написання статті).

10. **Кондратюк В. М.** Порушення реактивної відповіді нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові та загальної імунологічної реактивності організму у постраждалих з мінно-вибуховою травмою на першому тижні після поранення, як передумова розвитку інфекції ран. *Буковинський медичний вісник*. 2016. Т. 20. № 4(80). С. 94–98.

11. **Кондратюк В. М.** Особливості імунологічної реактивності та цитокінового статусу у постраждалих з бойовою травмою на четвертому тижні після поранення. *Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можасєва*. 2016. Т. 17, № 4. С. 62–68.

12. **Кондратюк В. М.** Значення нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення для прогнозування затримки загоєння бойових поранень. *Травма*. 2016. Т. 17, № 5. С. 67–71.

13. **Кондратюк В. М.**, Ковальчук В. П., Хіміч С. Д. Дослідження

динаміки репаративних процесів у повношаровій шкірній рані під впливом неферментуючої мікрофлори. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2016. № 27. С. 101–105. (Особистий внесок – розробка та постановка експерименту, узагальнення результатів та написання статті).

14. Придатність експериментальної моделі сплінт-ран щурів для вивчення процесу загоєння в умовах штучної контамінації бактеріями / **В. М. Кондратюк**, О. В. Пашковська, Т. О. Зайцева, Ю. Р. Дячок. *Вісник морфології*. 2016. Т. 2, № 22. С. 392–394. (Особистий внесок – розробка експериментальної моделі, постановка експерименту, написання статті).

15. **Кондратюк В. М.**, Ковальчук В. П., Коваленко І. М. Чутливість до антибіотиків плівкоутворювальної мікрофлори вогнепальних ран. *Інфекційні хвороби*. 2016. № 4 (86). С. 52–57. (Особистий внесок – відтворення біоплівки, відпрацювання методики та постановка експерименту, статистичний аналіз, написання статті).

16. Мікробіологічне обґрунтування доцільності комбінованого застосування антибіотиків і Декасану/ В. П. Ковальчук, **В. М. Кондратюк**, Н. С. Фоміна, І. М. Коваленко. *Медицина невідкладних станів*. 2017. № 8 (87). С. 39–42. (Особистий внесок – визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків та антисептиків, узагальнення результатів та написання статті).

17. Ковальчук В. П., **Кондратюк В. М.**, Трофіменко Ю. Ю. Результати порівняльного дослідження чутливості до антисептиків плівкових та планктонних форм бактерій. *Biomedical and Biosocial Anthropology*. 2014. № 22. С. 92–95. (Особистий внесок – відтворення біоплівки, статистичний аналіз, узагальнення результатів та написання статті).

18. Вивчення кінетики виділення протимікробної речовини з полімерних композицій мікробіологічним методом в поєднанні з математичним аналізом/ **В. М. Кондратюк**, В. П. Ковальчук, Р. М. Бектимірова, О. О. Фомін. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017. № 5 (7). С. 132–136. (Особистий внесок – розробка складу полімерної протимікробної композиції, проведення експерименту, математичний опис динаміки виділення активної речовини, написання статті).

19. Оцінка ефективності лікування експериментальної гнійної рани м'яких тканин з використанням полімерного антимікробного композиту у вигляді депо-форми декаметоксину / Р. М. Бектемірова, С. Д. Хіміч, **В. М. Кондратюк**, А. В. Крижановська, О. О. Фомін. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2018. № 2, Т. 22. С. 318–323. (Особистий внесок – розробка експериментальної моделі, постановка експерименту, аналіз даних та написання статті).

20. Засіб для надання поверхні виробів медичного призначення антимікробних властивостей / **В. М. Кондратюк**, Ю. Ю. Трофіменко, В. В. Бобрук, О. Л. Гончаров, А. В. Корсун, О. П. Кондратюк, Л. В. Кобзіна.

Biomedical and Biosocial Anthropology. 2012. № 18. С. 221–223. (Особистий внесок – розробка складу полімерної протимікробної композиції, проведення експерименту, визначення протимікробної активності засобу, написання статті).

21. Мікробіологічні аспекти ранової інфекції у потерпілих внаслідок бойових дій та її комплексне лікування з застосуванням вакуум-терапії / М. Д. Желіба, А. В. Верба, Г. Л. Богуш, І. П. Марцинківський, **В. М. Кондратюк**, В. П. Ковальчук, О. О. Фомін, Н. С. Фоміна. *Сучасні медичні технології*. 2019. № 3 (42). С. 50–56. (Особистий внесок – виділення та ідентифікація мікроорганізмів, аналіз та узагальнення результатів).

22. **Кондратюк В. М.** Мікробіологічна характеристика інфекційних ускладнень бойових поранень в різних збройних конфліктах. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2018. № 7 (16). С. 219–226.

23. Мікрофлора бойових ран кінцівок, які одержані в ході антитерористичної операції, у поранених, що проходили лікування у ВМКЦ ЦР м. Вінниця / **В. М. Кондратюк**, Г. Л. Богуш, О. О. Фомін, С. В. Томчук, Р. М. Бектемірова. *Харківська хірургічна школа*. 2016. № 2 (77). С. 80–83. (Особистий внесок – виділення та ідентифікація мікроорганізмів, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

24. Визначення джерела інфікування нозокоміальною флорою бойових поранень кінцівок на підставі аналізу мікрофлори на різних етапах лікування / А. В. Верба, І. П. Хоменко, **В. М. Кондратюк**, І. Г. Костенко, М. І. Котилевський, О. В. Олійник, В. М. Добровольський, О. В. Марченко, В. М. Олійник, Ж. В. Собкова, Л. О. Рощенко, А. А. Францишко. *Сучасні аспекти військової медицини*. 2016. № 23. С. 69–76. (Особистий внесок – аналіз результатів бактеріологічних досліджень, що проведені в різних лікувальних закладах, узагальнення результатів, написання статті).

25. Доклінічне вивчення ефективності нових полімерних протимікробних композицій для створення системи локальної доставки антисептиків / **В. М. Кондратюк**, В. П. Ковальчук, Г. В. Тульчинський, О. В. Олійник, О. В. Варченко. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*. 2017. Т. 1. С. 172–176. (Особистий внесок – розробка складу полімерної протимікробної композиції, проведення експерименту, визначення динаміки виділення активної речовини, написання статті).

26. Ковальчук. В. П., **Кондратюк В. М.**, Коваленко І. М., Буркот В. М. Фенотипові і генотипові детермінанти антибіотикорезистентності грамнегативних бактерій – етіологічних чинників інфекційних ускладнень бойових ран. *Мікробіологічний журнал*. 2019. №1. С. 61–71. (Особистий внесок – аналіз фенотипових проявів стійкості та співставлення з виявленими генами резистентності, написання статті).

27. Microflora of combat wounds at modern military conflicts /

V. P. Kovalchuk, **V. M. Kondratyuk**, I. M. Vovk, N. S. Fomina. *Význam interdisciplinárneho prístupu v prevencii chorôb III*. Budapest, Expharma. 2019. P. 27–45. (Особистий внесок – аналіз результатів бактеріологічних досліджень, що проведені в різних лікувальних закладах, узагальнення результатів, написання та переклад статті).

28. Спосіб динамічної кількісної оцінки перебігу ранового процесу поранень кінцівок : пат. № 92800 Україна. u201704320 / **Кондратюк В. М.**, Ковальчук В. П., Каніковський О. Є., Фомін О. О., Бабій В. Ю. ; заявл. 03.05.2017 ; опубл. 25.10.2017. Бюл. № 20. (Особистий внесок – розрахунок показників клітинної реактивності організму, статистичний аналіз, оформлення патенту).

29. Полімерна протимікробна композиція для локальної доставки протимікробних речовин : пат. №117415 Україна. a201702579 / **В. М. Кондратюк**, В. П. Ковальчук, С. Д. Хіміч, І. М. Коваленко, Г. В. Тульчинський, Р. М. Бектемірова ; заявл. 20.03.2017 ; опубл. 25.07.2018. Бюл. № 14. (Особистий внесок – проведення експерименту для порівняння ефективності зразка та існуючих моделей, статистичний аналіз, оформлення патенту).

30. Спосіб лікування інфікованих та гнійних ран з використанням ВАК-терапії та методу проточно-промивної іригації : пат. № 128658 Україна. u201807486 / С. А. Асланян, А. В. Верба, О. О. Фомін, Н. С. Фоміна, **В. М. Кондратюк** ; заявл. 04.07.2018 ; опубл. 25.09.2018. Бюл. № 18. (Особистий внесок – проведення бактеріологічних посівів ран, виділення та ідентифікація мікроорганізмів).

31. Діско-дифузійний спосіб визначення механізму резистентності до бета-лактамних антибіотиків у стафілококів : пат. № 119030 Україна. u201702080 / **В. М. Кондратюк**, В. П. Ковальчук, Г. К. Палій, О. П. Кондратюк, В. М. Буркот ; заявл. 06.03.2017 ; опубл. 11.09.2017. Бюл. № 17. (Особистий внесок – проведення експерименту для порівняння ефективності зразка та існуючих моделей, статистичний аналіз, оформлення патенту).

32. Організація надання медичної допомоги військовослужбовцям із бойовими пораненнями кінцівок та м'яких тканин: роль етіотропної терапії : [організаційно-методичні вказівки] / І. П. Хоменко, А. В. Верба, **В. М. Кондратюк**, О. О. Фомін, В. П. Ковальчук, Н. С. Фомін, С. О. Король, С. А. Асланян. Київ, 2018. 31 с. (Особистий внесок – розробка методичних рекомендацій з заходів контролю за раціональним призначенням антибактеріальних препаратів, визначення показів та груп хіміопрепаратів для лікування інфекційних поранень ускладнень).

33. **Kondratiuk V. M.**, Kopaneva L.O. Microbiological characteristics of the primary contamination of war wounds. Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21st century : III International Scientific Conference.

Київ, 2018. С. 56–57. (Особистий внесок – проведення посівів ран, аналіз та узагальнення результатів, написання тез).

34. Характеристика здатності до утворення біоплівки мікрофлорою вогнепальних ран / **В. М. Кондратюк**, В. П. Ковальчук, Н. С. Фоміна, І. М. Коваленко. Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація) : мат. наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів. Харків, 2017. С. 40. (Особистий внесок – експериментальне відтворення біоплівки, аналіз результатів, написання тез).

35. Плівкоутворення акінетобактерій в присутності антибіотиків / В. П. Ковальчук, **В. М. Кондратюк**, З. М. Прокопчук, В. М. Буркот. Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності : матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. Чернівці, 2018. С. 95–96. (Особистий внесок – експериментальне відтворення біоплівки, аналіз результатів, написання тез).

36. **Кондратюк В. М.**, Ковальчук В. П., Кондратюк О. П. Епідеміологічні особливості розповсюдження мікрофлори бойових поранень у сучасній системі лікування поранених, встановленні методом мультилокусного сіквенс типування. Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека : мат. наук.-практ. конф. ім. Л. В. Громашевського НАМН України. Київ, 2018. С. 85–87. (Особистий внесок – аналіз фенотипових проявів стійкості та співставлення з виявленими генами резистентності, написання тез).

37. **Кондратюк В. М.** Вибір антибіотиків для лікування хірургічної інфекції, що ускладнює бойові поранення кінцівок. Дев'ятий Британсько-Український симпозиум, 19-22 квітня, 2017. Київ, 2017. С. 51.

38. **Кондратюк В. Н.**, Ковальчук В. П. Микробиологическая характеристика лечения ран, инфицированных резистентными микроорганизмами, с использованием комбинированной терапии антибиотиками и депо формой декаметоксина. ƏZİZ MƏMMƏDKƏRİM oğlu ƏLİYEVİN DOĞUM GÜNÜNƏ HƏSR OLUNMUŞ ELMİ-PRAKTİKİ KONFRANSIN. Баку. 2019. С. 158–159. (Особистий внесок – визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків та депо форми антисептиків, узагальнення результатів та написання тез).

39. Аналіз зв'язку між резистентністю та біоплівкоутворенням мікроорганізмів, що виділяються з бойових поранень / І. М. Коваленко, **В. М. Кондратюк**, В. П. Ковальчук. Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека : мат. наук.-практ. конф. ім. Л. В. Громашевського НАМН України. Київ, 2017. С. 94–96. (Особистий внесок – відтворення біоплівки, статистичний аналіз, узагальнення результатів та написання тез).

40. Ковальчук В. П., **Кондратюк В. М.**, Кондратюк О. П. Дослідження

впливу компонентів бактеріальних біоплівок на репаративні процеси у повношаровій шкірній рані. Довкілля і здоров'я : зб. мат. наук.-практ. конф. Тернопіль, 2017. С. 185–186. (Особистий внесок – розробка експерименту, статистичний аналіз, узагальнення результатів та написання тез).

41. **Кондратюк В. М.**, Ковальчук В. П. Вплив лікарських засобів без протимікробної активності на біоплівкоутворення штамми *A. baumannii*. Інфекційні хвороби сучасності. Біологічна безпека та біозахист : мат. наук.-практ. конф., присвяч. щорічним «Читанням» пам'яті Л. В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України». Київ, 2016. С. 57–59. (Особистий внесок – відтворення біоплівок, статистичний аналіз, узагальнення результатів та написання тез).

42. Ковальчук В. П., **Кондратюк В. М.**, Кондратюк О. П. Генетичні маркери антибіотикорезистентності грампозитивних бактерій, що спричиняють інфекційні ускладнення бойових поранень. Рациональне використання антибіотиків : І міжнар. конгрес. 15-16 листопада 2018. Київ, 2018. С. 22–24. (Особистий внесок – аналіз та узагальнення результатів мультилокусного сіквенс типування, написання тез).

43. Динаміка утворення біоплівок неферментуючими грам негативними бактеріями на поверхні ендотрахеальних трубок / В. П. Ковальчук, **В. М. Кондратюк**, Н. С. Фоміна, Ю. Ю. Трофіменко. *Імунологія та алергологія. Наука і практика*. 2014. Дод. № 1. С. 58–59. (Особистий внесок – відтворення біоплівок, статистичний аналіз, узагальнення результатів та написання тез).

44. Перспективи використання адгезивних антисептичних композицій для попередження колонізації бактеріями дихальних трубок/ В. П. Ковальчук, **В. М. Кондратюк**, Н. С. Фоміна, Ю. Ю. Трофіменко. Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями : наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, присвячена 170-й річниці з дня народження І. І. Мечникова. Харків, 2015. С. 49. (Особистий внесок – відтворення біоплівок, статистичний аналіз, узагальнення результатів та написання тез).

45. Ковальчук В. П., **Кондратюк В. М.**, Трофіменко Ю. Ю. Чутливість грам негативних неферментуючих бактерій до антибіотиків та антисептиків. XIII з'їзд Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського. Ялта, 2013. С. 260. (Особистий внесок – статистичний аналіз, узагальнення результатів та написання тез).

АНОТАЦІЯ

Кондратюк В. М. Мікробіологічне обґрунтування нової концепції протимікробної терапії інфекційно-запальних ускладнень бойових поранень у збройному конфлікті сучасності. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за

спеціальністю 03.00.07 «мікробіологія». – ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України». Харків, 2020.

Дисертація присвячена розробці профілактики та лікування інфекційних ускладнень бойових ран за результатами мікробіологічного та епідеміологічного моніторингу.

Встановлено, що інфекційні ускладнення спричиняють переважно грамнегативні палички, яким притаманна множинна стійкість до антибіотиків. Ідентифіковано перелік генів, що кодують ферменти резистентності. Збудники виявляють здатність до утворення біоплівки, що зумовлює їх стійкість до антибіотиків. Компоненти біоплівки гальмують запальну відповідь макроорганізму, прискорюючи початок проліферативної фази. Для ерадикації мікроорганізмів з ранового ложа запропонована депо-форма декаметоксину, що забезпечує тривале виділення антисептика у рану і відновлює ефективність системної антибактеріальної терапії, щодо резистентних штамів.

Рекомендовані ефективні антибіотики та їх комбінації, покази для призначення та заміни; визначені основні організаційні заходи, що забезпечать збереження їх ефективності при лікуванні інфекційних ускладнень поранень.

Ключові слова: антибіотики, декаметоксин, резистентність, інфекційно – запальні ускладнення, рани, бактеріальні біоплівки, мікроорганізми.

АННОТАЦИЯ

Кондратюк В. Н. Микробиологическое обоснование новой концепции противомикробной терапии инфекционно-воспалительных осложнений боевых ранений в вооруженном конфликте современности. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени доктора медицинских наук по специальности 03.00.07 «микробиология». – ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины», Харьков, 2020.

Диссертация посвящена разработке профилактики и лечения инфекционных осложнений боевых ран по результатам микробиологического и эпидемиологического мониторинга.

Установлено, что инфекционные осложнения вызывают преимущественно грамотрицательные палочки, обладающие множественной устойчивостью к антибиотикам. Идентифицировано перечень генов, кодирующих ферменты резистентности. Возбудители проявляют способность к образованию биопленок, что обеспечивает их устойчивость к антибиотикам. Компоненты биопленок тормозят воспалительный ответ макроорганизма, ускоряя начало пролиферативной фазы. Для эрадикации микроорганизмов из раневого ложа предложена депо-форма декаметоксина, которая обеспечивает

длительное выделение антисептика в рану и восстанавливает эффективность системной антибактериальной терапии, в отношении резистентных штаммов.

Рекомендованы эффективные антибиотики и их комбинации, показания для назначения и замены; определены основные организационные мероприятия, обеспечивающие сохранение их эффективности при лечении инфекционных осложнений ранений.

Ключевые слова: антибиотики, декамтоксин, резистентность, инфекционно-воспалительные осложнения, раны, бактериальные биопленки, микроорганизмы.

SUMMARY

Kondratiuk V.M. A microbiological substantiation of a new concept for antimicrobial therapy of battle wounds with infectious and inflammatory complications in the modern armed conflicts. – Manuscript of qualifying research work.

The thesis for scientific degree of the doctor of medical sciences, specialty 03.00.07 – Microbiology. – State Institution “I. I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Science of Ukraine”, Kharkiv 2020.

The dissertation is devoted to the development of a modern concept of effective prevention and treatment of infectious and inflammatory complications of gun-shot and blast-explosive war wounds on the basis of microbiological and epidemiological monitoring results; microbiological substantiation of approaches for the optimal choice of antibacterial drugs, and establishment of a systematic stewardship for antibacterial therapy for the treatment of war wounds; development of methods for combined systemic and local antimicrobial therapy of infected wounds taking into account the antibiotic resistance of modern pathogens of inflammatory processes.

The scientific work has covered all existing levels of surgical care provided for the wounded during the anti-terrorist operation. In the course of study, 423 clinical strains of different species were identified. Among the studied cultures, there were 76 strains of *A. baumannii*, 81 strains of *Pseudomonas* spp., 55 coagulase-negative staphylococci, 25 *S. aureus* cultures, 122 gram-negative rods of the *Enterobacteriaceae* family, 43 enterococci, 18 diphtheroids.

It was defined there are dynamic changes of the dominant microflora. Gram-positive microorganisms predominantly enter the wound at the initial stage, which, are replaced by the gram-negative rods. Non-fermenting rods were cultured in most cases, (78.6% of cases), a quarter of such strains belonged to *Pseudomonas* genus, and the rest – to *Acinetobacter* genus. The studies of antibiotic susceptibility have shown that the proportion of gram-negative rods belonging to a multidrug-resistant bacteria or an extensively drug-resistant bacteria constitutes from 75 % to 100 % of

isolates without significant difference ($p > 0.05$) among different hospitals.

Tigecycline and colomicin appeared the most effective antibiotics against gram-negative rods, less effective were carbapenems, while fluoroquinolones and β -lactams lost their effectiveness. Only 20% of gram-positive cocci were of methicillin-resistant. By the method of whole genomic sequencing, it was observed that antibiotic resistance is determined by the presence of a rather large list of genetically determined mechanisms.

It was defined that among the microorganisms cultured from the gun-shot and blast-explosive war wounds, 71 (63.3%) among 112 investigated isolates were recognized as positive on the basis of biofilm formation. The biofilm optical density was the highest for *P. aeruginosa* followed by *Acinetobacter* spp.; *E. cloacae*; *K. pneumoniae*; *E. coli*; *Enterococcus* spp. and *Staphylococci*.

It was shown that in the presence of sub-bacteriostatic concentrations of decamethoxin, the bactericidal effect of antibiotics on the resistant non-fermentative gram-negative bacteria is restored. The depot form of decamethoxin has been developed, which is able to maintain antiseptic concentration at the level of $\frac{1}{2}$ from the original – 79.6-65.6 $\mu\text{g/ml}$ with a half-life ($T_{1/2}$) of 2.8 – 3 days. The potentiating effect on the antibiotics for the destruction of bacteria biofilm, and the ability to maintain antiseptic regime in the protein loaded environment have been proven. In the animal experiment, it was found that beads of the developed composition can be safely implanted into the wound bed, accelerating wound healing and terminating the inflammation phase.

For the first time, the changes in immunological reactivity of the contingent with war wounds have been studied. The new data on the dynamics of the number of immunocompetent cells has been obtained. The predictive value of the neutrophilic-lymphocytic ratio related to the duration of the wound healing process has been calculated.

It was established that under the influence of negative pressure used for wound treatment, the modification of the ability to biofilm formation of *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. strains is increased. It has been determined that biofilm formation and antibiotic resistance are manifested in bacteria as non-interconnected biological features ensuring bacteria colonization capacity. The conducted studies of the influence of biofilm matrix components on the phases of the wound healing process have found that the extracellular elements of biofilms provide immunosuppressive action, allowing to avoid the detrimental effect of immunocompetent cells and persist microorganisms in the wound. Biofilm matrix substances accelerate the inflammation phase completion, which should be considered as an element of the regulatory influence of bacteria on the wound healing processes.

Using the methods of epidemiological surveillance, it has been established that, irrespective of the geographical location of hospitals, it is possible to isolate strains

with the identical resistance profiles, combining resistance to aminoglycosides, fluoroquinolones, and cephalosporines. The method of multi-locus sequence typing shows close clonal affinity of isolates allocated in different healthcare facilities, which confirms the fact of the spread of bacteria beyond the limits of separate hospitals.

Based on antibiotic susceptibility data and the distribution pattern of the microorganisms which cause wound infectious complications, the recommendations for their treatment were developed, effective drugs and their combinations were established, as well as the indications for their prescription and replacement; stewardship measures were determined.

Key words: antibiotics, decametoxin, resistance, infectious and inflammatory complications, wounds, bacterial biofilms, microorganisms.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АТО – антитерористична операція

ВМКЦ – Військово-медичний клінічний центр

ДКС – Декаметоксин

КУО – Колоніє-утворююча одиниця

МБцК – Мінімальна бактерицидна концентрація

НЛС – Нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення

MDR – Multidrug-resistant (полірезистентні бактерії)

XDR – Extensively drug-resistant (бактерії з розширеною резистентністю)