

УДК 616-001.4-039.22

Лігоненко О.В., Гвоздяк М. М., Дігтяр І.І., Чорна І.О., Зубаха А.Б.,  
Стороженко О.В., Шумейко І.А., Ярошенко А.В.

## **ОСОБЛИВОСТІ МІКРОБІОЦЕНОЗУ ХРОНІЧНИХ РАН**

Вищий Державний Навчальний Заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м.Полтава

**Реферат.** На основі аналізу наукової літератури наведені особливості мікробіоценозу хронічних ран

**Ключові слова:** хронічні рани, ранова інфекція.

**Вступ.** Під хронічними ранами розуміють рани в яких нормальний процес загоєння порушений в одній із фаз ранового процесу (здебільшого в фазі запалення та проліферації) та які, при адекватній терапії, не загоюються протягом 8 тижнів [11].

Типовими хронічними ранами є рани (хронічні виразки), які виникають на фоні цукрового діабету, артеріальної або венозної недостатності, системних захворювань сполучної тканини, аутоімунних та онкологічних захворювань, радіаційного опромінення та ін.. До хронічних ран відносять також пролежні. Частіше всього ці рани виникають у хворих похилого віку.

Загоєння хронічних ран має певні біохімічні, молекулярні, клітинні, мікробіологічні та соматичні особливості, які пролонгують процес ранозагоєння, а іноді, і унеможливають його [13].

Всі хронічні рани бактеріально забруднені, але роль бактерій в рановому інфекційному процесі неоднозначна. Наявність мікроорганізмів в хронічній рані не виключає можливість її загоєння. Отже в процесі ранозагоєння має суттєве значення не сам факт мікробного забруднення хронічної рани, а особливості взаємодії мікроорганізмів із середовищем рани [18].

**Метою даної роботи** було виділення, на основі аналізу наукових літературних джерел, особливостей мікробіоценозу хронічних ран.

**Матеріали та методи.** Проведений аналіз наукових статей медичних баз даних “PubMed”, “Medline” та “Medscape”, використовуючи ключові слова

“chronic wounds” (хронічні рани) та “wound infection” (ранова інфекція)

**Результати та обговорення.** В залежності від реакції макроорганізму на вторгнення мікроорганізмів в рану виділяють декілька **стадій** мікробіологічної прогресії в хронічних ранах [21]:

**1. Контaminaції** – наявність мікроорганізмів в межах рани без їх мультиплікації (розмноження) при якій їх життєвий цикл переходить в адаптивну фазу (лаг-фазу). Як правило в цій фазі мікроорганізми не впливають на перебіг ранозагоєння та знищуються захисними силами макроорганізму.

**2. Колонізації:**

- **оборотної адгезії** - наявність мультиплікованих мікроорганізмів, які за допомогою адгезивних молекул фіксуються в рані, але ще можуть бути легко з неї видалені;

- **необоротної адгезії** - бактерії щільно фіксуються до поверхні рани;

**3. Критичної колонізації** – мікроорганізми швидко мультиплікують, заповнюють поверхню рани та визивають стан відстроченого ранозагоєння без видимих клінічних ознак інфекції. Тобто це стан рани коли її нормальний процес ранозагоєння знаходиться під загрозою, але ще без клінічних ознак інфекції. Разом з тим деякі симптоми критичної колонізації вже можуть бути виявлені: болісність, збільшення ексудації, зміна кольору рани, поява патологічних грануляцій, неприємного запаху.

**4. Локальної інфекції** - кількість бактерій перевищує критичну масу (як правило  $> 10^5$ /г) та клінічно проявляється чіткими ознаками запального процесу (гіперемія, гіпертермія, набряк, біль, порушення функції, гнійні виділення, неприємний запах, рихлі легко кровоточиві грануляції, знебарвлення грануляцій).

**5. Системної інфекції** – кількість мікроорганізмів критично збільшується, захисні сили макроорганізму не в змозі локалізувати інфекцію. Клінічно проявляється симптомами сепсису.

Не дивлячись на те, що хронічні рани мають різну етіологічну характеристику, **особливості їх мікробіоценозу** здебільшого схожі:

1. Високий рівень бактеріального забруднення ( $> 10^5$ /г).

2. Наявність більше ніж одного бактеріального штаму.
3. Наявність мікроорганізмів, яким властива швидка зміна свого генотипу та фенотипу.
4. Наявність рецидивної локальної та/або місцевої інфекції.
5. Наявність мікроорганізмів стійких до чисельних лікарських засобів.
6. Наявність біоплівок мікроорганізмів (колективного співтовариства мікроорганізмів сбалансованих по видовому складу та функціональному розподілу) стійких до захисних компонентів макроорганізму та антибіотиків.

Наявність біоплівок мікроорганізмів в хронічних ранах вважають одним із важливих патогенетичних чинників затриваного ранозагоєння [8, 21].

Вперше біоплівки (епідермального стафілококу) були виявлені за допомогою растрової електронної мікроскопії на поверхні хірургічних скобок та ниток, видалених із загоєних хірургічних ран (Gristina et al., 1985). Цікаво, що ці біоплівки не спричинили ні розвиток явної інфекції ні імунологічної реакції організму і колонізовані мікроорганізми не перешкоджали ранозагоєнню [6].

В експериментах на мишах при моделюванні гострих ран були виявлені біоплівки *Staphylococcus aureus*, а при електронній та лазерній мікроскопії встановлено, що золотистий стафілокок під час адгезії на поверхні рани продукував велику кількість глікокаліксу (зовнішній шар клітинної оболонки (плазмолем), утворений олігосахаридними ланцюгами глікопротеїнів і гліколіпідів, має товщину 3-4 нм, відіграє важливу роль у рецепторних функціях клітини, її взаємодії з мікрооточенням) (Akiyama et al., 1993; 1994, 1996, 2002) [2,10,24,25].

Також була показана можливість утворення біоплівок золотистим стафілококом виділених від пацієнтів з імпетиго, фурункулом та алергічним дерматитом (Akiyama et al., 1997) та *P. aeruginosa* від хворих з опіками (Harrison-Balestra et al, 2003) на покривних стеклах при їх інкубації на поживних середовищах при 37<sup>0</sup>С протягом 10-72 годин. На підставі цих досліджень був зроблений висновок про можливе існування біоплівок мкроорганізмів в цих пацієнтах [1,7].

James et al, 2008 в своїх дослідженнях продемонстрували існування біоплівок в хронічних ранах, причому з 50 хронічних ран було виявлено біоплівки у 30 і

лише одна у 16 гострих ранах. А Vjarnsholt et al, 2008 висунули гіпотезу про можливий механізм інгібування ранозагоєння біоплівками *P. Aeruginosa* за рахунок синтезу ними рамноліпідів (речовин з поверхнево-активною та емульгуючою дією), які пошкоджують нейтрофільні гранулоцити, перешкоджаючи ефективному бактеріальному очищенню рани. Крім того біоплівки, здається, пролонгують запальну реакцію в ранах, тим самим затруднюючи її загоєння [8,27].

Мікроорганізми в біоплівці в декілька раз (в 500 раз по даним Costerton et al., 1995) більш стійкі до антибіотиків, антимікробних препаратів та інших активних агентів. Спеціальні дослідження показали, що в біоплівках по іншому, у порівнянні з чистими культурами бактерій відбувається їх багаточисельні фізіологічні процеси. Співтовариство мікроорганізмів утворює єдину генетичну систему у вигляді плазмід – кільцевих ДНК, які несуть поведінковий код для членів біоплівки, що визначає їх харчові (трофічні), енергетичні та інші зв'язки між собою і зовнішнім середовищем та забезпечує фізіологічну і функціональну стабільність. Біоплівками важко керувати ззовні. Наприклад впливати на них антибіотиками, коли чутливість мікроорганізмів до антибіотиків в біоплівці інша, ніж на клінічних ізолятах чистих культур (Noiby et al., 2010) [3,20].

Речовини, що використовуються для боротьби з біоплівками (антибіоплівки) розділяють на ті, які намагаються зруйнувати або видалити біоплівки та ті, що намагаються попередити їх утворення.

Є невелика кількість робіт в цьому напрямку. Так перше клінічне дослідження було проведено при хірургічній обробці ран у хворих з критичною ішемією нижніх кінцівок з використанням лактоферину та ксилітолу, які впливають на обмін заліза та втручаються у процес формування екстрацелюлярної полімерної субстанції (EPS) біоплівок (Wolcott and Rhoads, 2008) [28].

В якості антибіоплівок також запропоновано використання біологічної хірургічної обробки ран з використанням личинок (Van der Plas et al, 2008) [19] та ензимів, що руйнують EPS (Donelli et al, 2007) [26].

Також проводились дослідження по вивченню антибіоплівочної дії деяких ан-

тисептичних розчинів (хлоргексидину, перекису водню, похідних йоду, срібра та ін. ) in vitro (Kunisada et al, 1997; Akiyama et al, 2004; Johansen et al, 1997; Chaw et al, 2005; Bjarsholt et al, 2007; Percival et al, 2007) [4,9,16,17,22,23].

Перспективним напрямком у боротьбі з біоплівками є застосування меду, одним із механізмом якого вважають молекулу фруктози, яка попереджає адгезію *P. aeruginosa* до клітин хазяїна (Lerrer et al, 2007) [14]. Про уповільнення медом утворення біоплівок in vitro повідомляли також Alandejani et al, 2009; Merckoll et al, 2009; Okhiria et al, 2009 [5,12,15].

### **Висновки.**

1. Мікроорганізми в хронічних ранах здебільшого мають більше ніж один бактеріальний штам з високим рівнем бактеріального забруднення, яким властива швидка зміна свого гено- та фенотипу за рахунок утворення біоплівок, стійких до чисельних лікарських засобів.
2. Наявність біоплівок мікроорганізмів на поверхні хронічної рани є важливим (але не єдиним) патогенетичним чинником пролонгованого ранозагоєння.
3. При розробці оптимальної лікувальної тактики щодо хронічних ран необхідно враховувати особливості їх мікробіоценозу.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчення біоплівок мікроорганізмів хронічних ран, встановлення чітких механізмів їх впливу на перебіг ранозагоєння, розроблення простих та доступних методів їх виявлення та знешкодження є перспективним напрямком подальших наукових досліджень.

### **Література**

1. A wound-isolated *Pseudomonas aeruginosa* grows a biofilm in vitro within 10 hours and is visualised by light microscopy / C. Harrison-Balestra, A.L. Cazzaniga, S.C. Davis // *Dermatol Surg.* – 2003.- Vol. 29, №6.- P. 631–635.
2. Akiyama H. Interaction of *Staphylococcus aureus* cells and silk threads in vitro and in mouse skin / H. Akiyama, R. Torigoe, J. Arata // *J Dermatol Sci.*- 1993.- Vol. 6.- P. 247–257.
3. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / N. Noiby, T. Bjarsholt, M. Givskov [at al.] // *Int J Antimicrobial Agents.* – 2010. – Vol. 35, №4. – P. 322–332.

4. Assessment of cadexomer iodine against *Staphylococcus aureus* biofilm in vivo and in vitro using confocal scanning microscopy / H. Akiyama, T. Oono, M. Saito [at al.] // *J Dermatol.* – 2004. – Vol. 31. – P. 529–534.
5. Bacteria, biofilm and honey: A study of the effects of the honey on ‘planktonic’ and biofilm-embedded wound bacteria / P. Merckoll, T.O. Jonassen, M.E. Vad [at al.] *Scand J Infect Dis.* – 2009. – Vol. 41, №5. – P. 341–347.
6. Bacterial colonisation of percutaneous sutures / A.G. Gristina, J.L. Price, C.D. Hobgood, [et al.] // *Surgery.* - 1985. – Vol. 98, №1. – P. 12–19.
7. Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from imetigo and furuncle: role of fibrinogen and fibrin / H. Akiyama, M. Ueda, H. Kanazaki [at al.] // *J Dermatol Sci.*- 1997.- Vol.16.- P. 2–10.
8. Biofilms in chronic wounds / G.A. James, E. Swogger, R. Wolcott [et al] // *Wound Rep Regen.* – 2008. – Vol. 16 , №1. – P. 37–44.
9. Chaw K.C. Role of silver ions in destabilization of intermolecular adhesion forces measured by atomic force microscopy in *Staphylococcus epidermidis* biofilms / K.C. Chaw, M. Manimaran, F. Tay // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2005. – Vol. 49, №12. – P. 4853–4859.
10. Confocal laser scanning microscopic observation of glycocalyx production by *Staphylococcus aureus* in mouse skin: does *S. aureus* generally produce a biofilm on damaged skin? / H. Akiyama, W. Huh, O. Yamasaki [et al.] // *Br J Dermatol.* – 2002.- Vol.147. – P. 879–885.
11. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing / G.S.Lazarus, D.M.Cooper, D.R.Knighton [et al.] // *Arch Dermatol.*- 1994.-Vol. 130, №4.- P. 489-493.
12. Effectiveness of honey on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms / T. Alandejani, J. Marsan, W. Ferris [at al.] // *Otolaryngol Head Neck Surg .* – 2009. – Vol. 139, №1. – P. 107–111.
13. Enoch S. Wound Bed Preparation: The Science Behind the Removal of Barriers to Healing / S. Enoch, K. Harding // *Wounds.* – 2003. – Vol.15, №7. – P. 12-17.
14. Honey and royal jelly, like human milk, abrogate lectin-dependent infection

preceding *Pseudomonas aeruginosa* adhesion / B. Lerrer, K.D. Zinger-Yosovitch, B. Avrahami [at al.] // ISME Journal. – 2007. – Vol. 1. – P. 149–155.

15. Honey modulates biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* in a time and dose dependent manner / O. Okhiria, A. Henriques N. Burton [at al.] // J ApiProduct ApiMedical Sci. – 2009. – Vol. 1, №1. – P. 6–10.

16. Investigation into the efficacy of povidone-iodine against antiseptic-resistant species / T. Kunisada, K. Yamada, S. Oda [at al.] // J Dermatol. – 1997. – Vol. 195, № 2. – P. 14–18.

17. Johansen C. Enzymatic removal and disinfection of bacterial biofilms / C. Johansen, P. Falholt, L. Gram // Appl Environ Microbiol. – 1997. – Vol. 63, №9. – P. 3724–3728.

18. Kerstein M.D. Wound infection: Assessment and management / M.D. Kerstein // Wounds . – 1996. – Vol.8. – P.141-144.

19. Maggot excretions/secretions are differentially effective against biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* / Van der Plas, G.N. Jukema, S.W. Wai [et al] // J Antimicrob Chemoth. – 2008. – Vol. 61. – P. 117–122.

20. Microbial biofilms / J.W. Costerton, Z. Lewandowski, D.E. Caldwell [at al.] // Annual Rev Microbiol. – 1995. – Vol. 49. – P. 711–745.

21. Percival S., Cutting K. Microbiology of wounds / S. Percival, K. Cutting // CRC Press Taylor & Francis Group Boca Raton London New York. – 2010. – 409 p.

22. Percival S.L. Antimicrobial activity of silver-containing dressings on wound micro-organisms using an in vitro biofilm model / S.L. Percival, P.G. Bowler J. Dolmant // Int Wound J. – 2007. – Vol. 4, №2. – P. 186–191.

23. Silver against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms / T. Bjarnsholt, K. Kirketerp – Moller, S. Kristiansen [et al] // APMIS. – 2007. – Vol. 115. – P. 921–928.

24. *Staphylococcus aureus* infection on cut wounds in the mouse skin: experimental staphylococcal botryomycosis / H. Akiyama, H. Kanazaki, J. Tada [et al.] // J Dermatol Sci.- 1996.- Vol. 11.- P. 234–238

25. *Staphylococcus aureus* infection on experimental croton oil-inflamed skin in mice / H. Akiyama, H. Kanazaki, J. Tada [et al.] // J Dermatol Sci. – 1994. – Vol. 8.- P. 1–

10.

26. Synergistic activity of dispersin B and cefamandole nafate in inhibition of staphylococcal biofilm growth on polyurethane / G. Donelli, I. Francolini D. Romoli [et al] // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2007. – Vol. 51, №8. – P. 2733–2740.

27. Why chronic wounds fail to heal: a new hypothesis / T. Bjarnsholt, K. Kirketerp-Moller, P. Jensen, [et al.] // *Wound Rep Regen.* – 2008. – Vol. 16, №1. – P. 2–10.

28. Wolcott R.D. Biofilms and chronic wound inflammation / R.D. Wolcott, D.D. Rhoads, S.E. Dowd // *J Wound Care.* – 2008. – Vol. 17, №8. – P. 333–341.

#### **Реферат. Особенности микробиоценоза хронических ран**

Лигоненко А.В., Гвоздяк Н.Н., Дигтярь И.И., Черная И.А., Зубаха А.Б., Стороженко А.В., Шумейко И.А., Ярошенко А.В.

**Ключовые слова:** хронические раны, раневая инфекция.

На основе анализа научной литературы показаны особенности микробиоценоза хронических ран.

#### **Summary. Features of microbiocenosis of chronic wounds**

Ligonenko O.V., Gvozdyak M.M., Digtyar I.I. Zubacha A.B., Chorna I.O., Storozhenko O.V., Schumeyko I.A., Yarochenko A.V.

**Key words:** chronic wounds, wound infection.

Based on the analysis of scientific literature shows the features of microbiocenosis of chronic wounds