УДК 616-001.4-022:579.841.11

Зажарський В. В., кандидат ветеринарних наук, доцент
Сосницький О. І., доктор ветеринарних наук, професор
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна
Мурашевич Б. В., кандидат хімічних наук, доцент
Кошова І. П., кандидатка медичних наук, доцент
Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна
Оржинська М. С., викладачка
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна
e-mail: zazharskiyv@gmail.com

НЕГАТИВНИЙ ІНФЕКЦІОНОГЕНЕЗ *PSEUDOMONAS AEROGENOSA* ПРИ ІНФІКУВАННІ ЗРОШЕННЯМ РАНОВОЇ ПОВЕРХНІ

Вступ. Рановий дефект покривних тканин, шкіри або слизової оболонки – це алармістна ситуація для макроорганізму, тому що відкривається внутрішнє середовище для проникнення чужорідної генетичної субстанції зовнішнього світу у вигляді інфекційного паразитоценозу, що мешкає поруч. Однією з магістральних умов існування багатоклітинного організму завжди було контроль і управління генетичним гомеостазом внутрішнього середовища за імперативом – толерантність до генетично свого і розпізнавання та елімінація генетично чужорідного. Цей принцип був закладений в основу функціонування перших конгломератів еукаріотичних клітин з самого початку їх спеціалізації і формування відокремленого, генетично оригінального багатоклітинного організму, здатного до репродукції власної генетичної програми на підставі метаболічної діяльності консорциума органічно об'єднанних клітин з єдиним генотипом. За даними палєогенетики і принципів дарвіновської еволюції відомо, що перші клітинні організми еукаріотичного типу з'явились понад 1,5 – 2,0 мільярда років назад внаслідок єдиної і неповторної біологічної події – злиття прокаріотичної і архейної клітин з об'єднанням геномів і формуванням біологічної конструкції принципово нового типу, а саме еукаріотичного типу з подальшим ускладненням і дивергенцією. Після сотень мільйонів років індивідуального розвитку, в період так званого «нудного мільярду», на початку кембрія стали формуватися перші примітивні багатоклітинні спільноти, котрі розвились в сучасні царства тварин, рослин і грибів в процесі фанєрозойного еону [1, 2].

Актуальність. Патогенез ранової інфекції дуже складний біологічний процес, який розвивався разом з ускладненням імуно-біологічних систем контролю і підтримки генетичного гомеостазу внутрішнього середовища макроорганізму в тісному оточенні мікробіального світу. Паразито-хазяїнні відношення були і є одними з найбільш дієвих механізмів стимуляції і розвитку біологічних механізмів захисту від мікробної агресії, і першим бар'єром виступають покривні тканини, при механічному травмуванні яких виникають ранові поверхні. При цьому механічна бар'єрна функція покривних тканин скасовується і відкриваються «вхідні ворота» для супутньої мікрофлори. Це катастрофічна ситуація для генетичної чистоти макроорганізму, тому в процесі довготривалої еволюції багатоклітинних організмів впродовж більш пів мільярда років були сформовані ефективні неспецифічні клітино-гуморальні біомеханізми репарації пошкоджених ділянок і фагоцитарно-лізосомальної деструкції генетично несингенних клітинних і неклітинних форм життя. Інфікування рани прокаріотами і патогенез інфекційного процесу в дефектній ділянці представляє нагальну медико-біологічну проблему. Одним з найбільш погрозливих ускладнень є інфікування *Ps. aeruginosa,* що може призвести до важких гнійно-некротичних процесів, в критичних випадках несумісних з життям або нормальним фізіологічним функціонуванням органу. [3-5].

Мета роботи: вивчення патогенезу ранової інфекції в штучному дефекті шкіри

кроликів при зрошенні суспензією *Ps. aeruginosa* і потенційної можливості збудника до акцепції на поверхні тканьового дефекту.

Матеріали і методи. Мікробіологічні і біологічні дослідження виконували на кафедрах інфекційних хвороб тварин та віварію факультету ветеринарної медицини Дніпровського ДАЕУ, а також мікробіології, вірусології, імунології, епідеміології та медико-біологічної фізики і інформатики Дніпровського державного медичного університету.

Для культивування *Ps. aeruginosa* використовували прості живильні середовища МПБ і МПА. Фарбування мазків робили за Грамом і Романовським-Гимза. Біохімічну активність вивчали на диференціально-діагностичних середовищах.

Концентрацію бактеріальної культури визначали за допомогою денситометра і виражали в НВЧ (найбільш вірогідне число)/см^3 в суспензії на ізотонічному розчині.

Результати дослідження. Біологічні дослідження проводили на шести інбредних кроликах живою масою тіла 0,8 – 1,2 кг.

Кроликам під місцевою анестезією (2,0 % розчин лідокаїну) штучно відтворили рановий дефект шкіри, площиною 1,5 см^2, на правому боці. Після тампонади ексудативного випоту і незначної капілярної кровотечі на ранову поверхню одноразово нанесли ≈ 2,0 см^3 зависі добової агарової культури *Ps. aeruginosa biofilm infections*, з концентрацією $1{,}2\times10^6$ НВЧ/см^3, $\Sigma \approx 2{,}4\times10^6$ НВЧ в ізотонічному розчині. Суспензія прокаріоту покривала ранову поверхню тонким шаром впродовж приблизно півхвилини. За цей період відбувалась акцепція мікроорганізмів на поверхні тканьового дефекту (рис. 1).



Рис. 1. Інфікування рани методом одноразового зрошення суспензією *Ps. aeruginosa*

Кролики процедуру нанесення збудника синьогнойної інфекції перенесли досить легко, без патофізіологічних загальноорганізмених змін. Кожну добу робили мазки з ранової поверхні і фарбували за Грамом та Романовським-Гимза. В першу добу у трьох кроликів в мазках при мікроскопії спостерігали грамнегативні багаточисельні палички, але на другу добу мікроскопічно культура вже не реєструвалась. Рана вкрилась струпом і загоєння відбувалось під кіркою струпу. Прокаріот негативно фарбувався за Грамом. В препаратах мав вигляд дрібних поліморфних паличок, що розташовувались безладними скупченнями, короткими ланцюжками або поодиноко. Ендоспори у вигляді ярких світлопереломлюючих структур не спостерігали, капсули не виявляли при фарбуванні за Романовським-Гимза.

При висіві ранового ексудату в прості живильні середовища і культивуванні в аеробних умовах за 37-38 ºС в термостаті через добу отримали первинний ріст прокаріот. В МПБ спостерігали незначне помутніння бульйону з формуванням на другу добу тонкої поверхневої сіруватої плівки. На третю-четверту добу випадав сірувато-білий слизький осад. При витримки посівів на розсіяному помірному денному світлі бульйон ставав зеленувато-синього кольору, що є характерною фенотиповою ознакою культури синьогнойної палички.

На МПА псевдомонади формували доволі крупні, до 4-5 мм в діаметрі округлі випуклі напівпрозорі колонії з випуклою центральною частиною. Колонії були гладкі, легко

емульгувались і їх можна віднести до S-форми колоніального зростання прокаріот (рис. 2).

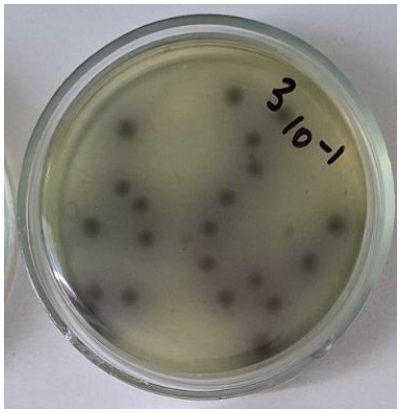


Рис. 2. Культура *Ps. aeruginosa* на МПА з ранової поверхні

Ізольований збудник володів слабко вираженою біохімічною активністю, вуглеводи не ферментував, окрім глюкози з утворенням кислоту без газу; розріджував желатину; розщеплював бета-аланін і D,- L-аспарагін; утворював оксидазу і аргінінгідролази; викликав денітрифікацію.

На підставі комплексного вивчення морфо-тинкториальних, культуральних і біохімічних властивостей ізольовану культуру прокаріот віднесли до реізольованої з рани вихідної культури *Ps. aeruginosa biofilm infections.*

Висновки

1. Механічне нанесення 2,0 см^3 суспензії *Ps. aeruginosa* з концентрацією 2,4×10^6 НВЧ не призводить до розвитку інфекційного процесу внаслідок ефективної фагоцитарної протективної реакції поверхневих клітин гранулярного епітелію.

2. Штучні дефекти шкіри у кроликів загоїлись без гнійно-некротичних ускладнень впродовж двох тижнів без застосування антимікробних засобів терапії.

Література

1. Fine, J. L., & Pearlman, R. E. (2023). On the origin of life: an RNA-focused synthesis and narrative. *Rna, 29*(8), 1085–1098. https://doi.org/10.1261/rna.079598.123

2. Moser, C., Jensen, P. Ø., Thomsen, K., Kolpen, M., Rybtke, M., Lauland, A. S., Trøstrup, H., & Tolker-Nielsen, T. (2021). Immune Responses to Pseudomonas aeruginosa Biofilm Infections. *Frontiers in Immunology,* 12. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.625597

3. Serra, R., Grande, R., Butrico, L., Rossi, A., Settimio, U. F., Caroleo, B., Amato, B., Gallelli, L., & de Franciscis, S. (2015). Chronic wound infections: The role of Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. *Expert Review of Anti-Infective Therapy, 13*(5), 605–613. https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1023291

4. Zazharskyi, V. V., Zaslavskyi, O. M., Sosnickyi, O. I., Tishkina, N. M., Zazharska, N. M., Biben, I. A., Sosnicka, A. O., & Brygadyrenko, V. V. (2024). Treatment of burns using polyethylene-glycol-based drugs: Dynamics of regeneration at the biochemical, cytological, histological, and organism levels of organization. *Regulatory Mechanisms in Biosystems, 15*(2), 382–394. https://doi.org/10.15421/022454

5. Zazharskyi, V., Zaslavskyi, O., Sosnickyi, O., Marina, B., Zazharska, N., Biben, I., & . (2025). In Vivo Evaluation of a Polyethylene Glycol-Based Cryoprotectant during Cold Stress in a Rat Model. *World's Veterinary Journal, 15*(1), 86–95. https://doi.org/10.54203/scil.2025.wvj11