

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИЙ ОБЛАСТИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА ПРИ СВОБОДНОЙ КОЖНОЙ ПЛАСТИКЕ

Дата поступления  
29.03.2019

В. В. Бесчастнов<sup>1</sup>,  
А. Е. Леонтьев<sup>1</sup>,  
М. Г. Рябков<sup>1</sup>,  
Т. Н. Юданова<sup>2</sup>,  
В. В. Кичин<sup>1</sup>,  
И. В. Павленко<sup>1</sup>,  
Н. И. Малахова<sup>3</sup>,  
А. Е. Московская<sup>3</sup>,

<sup>1</sup>ГБУЗ НО «Городская  
клиническая больница № 30  
г. Нижнего Новгорода»,

<sup>2</sup>ООО «Новые Перевязочные  
Материалы», г. Москва,

<sup>3</sup>ГБУЗ НО «Городская  
клиническая больница № 12  
г. Нижнего Новгорода»

Бесчастнов Владимир Викторович –  
e-mail: [vvb748@mail.ru](mailto:vvb748@mail.ru)

**Цель исследования:** профилактика инфекционных осложнений в области кожной пластики путем иммобилизации актуальных для данной медицинской организации бактериофагов в области реципиентной раны. **Материалы и методы.** Разработан способ кожной пластики, при котором бактериофаги иммобилизуются в заданной области при помощи гидрогелевой повязки, приготавливаемой *ex tempore*. Для контроля жизнеспособности и эффективности бактериофагов, находящихся в гидрогелевой повязке, выполнили бактериологические исследования *in vitro* и *in vivo*. **Результаты.** Выявлено, что бактериофаги сохраняют жизнеспособность, биологическую доступность и литическую активность в гидрогелевой повязке в течение 4–5 суток. Подтверждена возможность и безопасность использования бактериофагов для защиты расщепленного аутодермотрансплантата от госпитального инфицирования. **Выводы.** Использование бактериофагов для профилактики местных инфекционных осложнений при свободной кожной пластике перспективно и технически возможно.

**Ключевые слова:** свободная кожная пластика, рана, микрофлора, бактериофаги.

**The purpose of the study:** prevention of infectious complications in the field of skin plastics by immobilization of bacteriophages relevant for the medical organization in the field of recipient wounds. **Materials and methods.** A method has been developed in which bacteriophages are immobilized in the area of operation with a hydrogel dressing prepared *ex tempore*. To monitor the viability and effectiveness of bacteriophages in hydrogel dressings, they performed *in vitro* and *in vivo* bacteriological studies. **Results.** It has been revealed that bacteriophages retain viability, bioavailability and lytic activity in a hydrogel dressing for 4–5 days. The possibility and safety of the use of bacteriophages for the protection of a cleaved autodermal transplant from hospital infection has been confirmed. **Conclusions.** The use of bacteriophages for the prevention of local infectious complications with free skin grafting is promising and technically possible.

**Key words:** split-skin grafting, chronic wounds, microflora, bacteriophages.

Пластика кожного дефекта расщепленным аутодермотрансплантатом является одной из самых распространенных операций в силу своей относительной безопасности и технической простоты. Однако серьезным фактором, препятствующим заживлению раны после пластического закрытия, является инфекция области хирургического вмешательства [1, 2], что стимулирует как разработку и внедрение в практику новых антибактериальных препаратов, так и совершенствование хирургической техники местного лечения дефектов мягких тканей [3]. Антибиотики, с момента их открытия в начале прошлого века, являются краеугольным камнем лечения бактериальных инфекций. Однако, восемь десятилетий широко, часто неизбирательного использования антибактериальных препаратов привели к общему снижению их эффективности, и в настоящее время серьезной проблемой являются бактерии с множественной лекарственной устойчивостью. В этих условиях весьма перспективным

выглядит использование бактериофагов для борьбы с возбудителями госпитальной инфекции [4], тем более, что в настоящее время, в связи с пандемией мультирезистентных бактерий, терапевтическое использование фагов переживает ренессанс во всем мире.

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** профилактика инфекционных осложнений в области кожной пластики путем иммобилизации актуальных для данной медицинской организации бактериофагов в области реципиентной раны.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Разработан способ кожной пластики, при котором реализована возможность иммобилизации бактериофагов в заданной области при помощи гидрогелевой повязки, приготавливаемой *ex tempore*. Предварительно методом ретроспективного анализа выявляют актуальную госпитальную микрофлору, являющуюся причиной местных раневых осложнений при кожной пластике. Из имеющихся в продаже коммерческих препаратов бактериофагов

подготавливают набор, к которым чувствительны выявленные госпитальные патогены, затем готовят повязку на реципиентную рану, содержащую выбранные бактериофаги. Для этого раствор бактериофагов переводят в состояние геля, из которого формируют повязку на трансплантат. Исходно повязка представляет собой пленку из поливинилового спирта – гидрофильного биосовместимого полимера медико-биологического назначения, который является подходящей матрицей для иммобилизации биоактивных веществ [5]. После добавления на поверхность пленки раствора бактериофагов образуется гидрогелевая пластина, помещаемая на аутодермотрансплантат. Для контроля жизнеспособности и эффективности бактериофагов, иммобилизованных в гелевой повязке, выполнили бактериологические исследования *in vitro* и *in vivo*. При исследовании *in vitro* жизнеспособность, биологическую доступность (высвобождение) и литическую активность бактериофагов из гелевой повязки определяли на газонах культуры тест-штамма *Staphylococcus aureus*. Методика определения жизнеспособности и литической активности бактериофага в исследуемой среде основывалась на федеральных клинических рекомендациях [6] и заключалась в следующих этапах:

- приготовление питательных сред;
- приготовление суспензий исследуемых микроорганизмов;
- посев микроорганизма на питательные среды и последующее нанесение бактериофагов;
- инкубация;
- учет и интерпретация результатов, формулировка заключения по определению жизнеспособности и литической активности бактериофага.

Технология формирования гелевого раневого покрытия разработана специалистами ООО «Новые перевязочные материалы» (Москва). Клиническое исследование выполнено с участием пациентов, находившихся на лечении в хирургическом отделении ГБУЗ НО «Городская клиническая больница № 30» г. Нижнего Новгорода с января 2018 по март 2019 год. Микробиологические исследования выполнены в лаборатории ГБУЗ НО «Городская клиническая больница № 12» г. Нижнего Новгорода.

В клиническом исследовании изучили возможность и безопасность использования бактериофагов для защиты расщепленного аутодермотрансплантата от госпитального инфицирования. С этой целью оценивали литическую активность бактериофагов при кожной пластике предложенным способом у 15 пациентов с хроническими ранами мягких тканей. Всем пациентам или их законным представителям была предоставлена соответствующая информация об исследовании и необходимости дать информированное согласие, прежде чем они примут участие в

исследовании. Все пациенты, участвовавшие в клиническом исследовании, дали на это письменное добровольное информированное согласие, а исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 года).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При лабораторном исследовании установлено, что литические свойства бактериофагов сохранялись через 48, 72, и 96 часов после формирования гелевой пластины из раствора бактериофага. При клиническом исследовании не выявлено случаев госпитального инфицирования области хирургического вмешательства. Полученный гель покрывал аутодермотрансплантат, обеспечивал изоляцию его от внешней среды. При бактериологическом исследовании активность бактериофагов в повязке сохранялась до 4–5 суток.

Результаты клинического исследования показали, что группы пациентов были сопоставимы по возрасту, полу, а также по площади хронических ран, сопутствующим и перенесенным сердечно-сосудистым заболеваниям, проводимой противодиабетической и сосудистой терапии и изначальному уровню гликированного гемоглобина и гликемии ( $p > 0,05$ ). Это дало возможность провести репрезентативный анализ и получить объективные выводы. Так, ни в одной из групп на фоне проводимого лечения не отмечено отрицательных изменений в клинических лабораторных исследованиях, показателях гемостаза, биохимических показателях. Осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы, почек и респираторных осложнений не отмечено. Интенсивность болевого синдрома в группах не различалась.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из общепризнанных принципов лечения ран является сокращение бактериальной нагрузки до уровня, приемлемого для макроорганизма, а также устранение из раневого дефекта наиболее вирулентных форм патогенных микроорганизмов. Во многих работах была продемонстрирована прямая связь между бактериальной нагрузкой и активностью репаративных процессов [7]. Бактериофаги (фаги) являются наиболее распространенными организмами на Земле и являются естественными контролерами численности бактерий. Они являются «вирусами» бактерий и способны лизировать среди прочих штаммы вирулентных микроорганизмов независимо от чувствительности этих штаммов к антибиотикам. Эта их способность позволяет использовать бактериофаги в качестве альтернативного средства борьбы с инфекцией, которое может сочетаться или чередоваться с антибиотикотерапией и может улучшить результаты лечения бактериальных инфекций [8].

По литературным данным, результаты экспериментальных исследований на животных подтверждают безопасность и эффективность фагов при лечении хронических ран, инфицированных *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* [9, 10]. Вместе с тем серьезной технической проблемой является поддержание достаточной концентрации бактериофагов в заданной анатомической области. Постановка такой задачи связана с тем, что эффективность уничтожения фагом бактерий зависит от количества частиц фагов, адсорбирующихся на бактериальных мишенях [11]. При высокой начальной концентрации бактерий высокая доза фагов может быстро остановить рост бактерий [12]. В совместном исследовании французских, бельгийских и швейцарских ученых [13], выполненном в рамках европейского проекта «PhagoBurn», сделан вывод, что низкие концентрации фагов приводят к неудачным исходам лечения.

Предлагаемый способ обеспечивает сохранение жизнеспособности и поддержание концентрации бактериофагов в области реципиентной раны для защиты аутодермотрансплантата от высоковирулентной госпитальной микрофлоры. Преобразование раствора в гель обеспечивает условия стабильности бактериофага в течение 4–5 суток. Полученный гель обеспечивает иммобилизацию бактериофагов на этот же срок в области аутодермотрансплантата. Сформированная из геля повязка на реципиентную рану обладает пластичностью и легко моделируется на поверхностях сложной формы.

### ВЫВОДЫ

Использование бактериофагов для профилактики местных инфекционных осложнений при свободной кожной пластике перспективно и технически возможно.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Bhandari P.S., Maurya S., Mukherjee M.K. Reconstructive challenges in war wounds. *Indian J Plast Surg.* 2012. № 45 (2). P. 332-9.

2. Muntean D., Horhat F.G., Baditoiu L. et al. Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli: A Retrospective Study of Trends in a Tertiary Healthcare Unit. *Medicina (Kaunas).* 2018. № 54 (6). P. 92.

3. Glik J., Labus W., Kitala D., Mikus-Zagorska K., Roberts C.D., Nowak M. et al. A 2000 patient retrospective assessment of a new strategy for burn wound management in view of infection prevention and treatment. *Int Wound J.* 2018. № 15 (3). P. 344-349.

4. Sevgi M., Toklu A., Vecchio D., Hamblin M.R. Topical antimicrobials for burn infections - an update. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2013. № 8 (3). P. 161-97.

5. Юданова Т.Н., Алешина Е.Ю., Гальбрайт Л.С., Крестьянова И.Н. Фармакокинетические свойства пленок с комбинированным биологическим действием. *Химико-фармацевтический журнал.* 2003. Т. 37. № 11. С. 26-28.

Yudanov T.N., Aleshina E.YU., Gal'braikh L.S., Krest'yanova I.N. *Farmakokineticheskie svojstva plenok s kombinirovannym biologicheskim dejstviem. KHimiko-farmatsevticheskij zhurnal.* 2003. T. 37. № 11. S. 26-28.

6. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Федеральные клинические рекомендации. М. 2014. 39 с.

*Ratsional'noe primenenie bakteriofagov v lechebnoj i protivoehidemicheskoy praktike. Federal'nye klinicheskie rekomendatsii.* M. 2014. 39 s.

7. Lukic J., Chen V., Strahinic I., Begovic J., Lev-Tov H., Davis S.C. et al. Probiotics or pro-healers: the role of beneficial bacteria in tissue repair. *Wound Repair Regen.* 2017. № 25 (6). P. 912-922.

8. Rostami S., Farajzadeh Sheikh A., Shoja S., Farahani A., Tabatabaiefar M.A., Jolodar A., Sheikh R. Investigating of four main carbapenem-resistance mechanisms in high-level carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *J Chin Med Assoc.* 2018. № 81 (2). P. 127-132.

9. Mendes J.J., Leandro C., Corte-Real S., Barbosa R., Cavaco-Silva P., Melo-Cristino J. et al. Wound healing potential of topical bacteriophage therapy on diabetic cutaneous wounds. *Wound Repair Regen.* 2013. № 21. P. 595-603.

10. Seth A.K., Geringer M.R., Nguyen K.T., Agnew S.P., Dumanian Z., Galiano R.D. et al. Bacteriophage therapy for *Staphylococcus aureus* biofilm-infected wounds: a new approach to chronic wound care. *Plast. Reconstr. Surg.* 2013. № 131. P. 225-234.

11. Cairns B.J., Timms A.R., Jansen V.A.A., Connerton I.F., Payne R.J.H. Quantitative models of in vitro bacteriophage-host dynamics and their application to phage therapy. *PLoS Pathog.* 2009. № 5. P. 1-10.

12. Tanji Y., Shimada T., Fukudomi H., Miyayama K., Nakai Y., Unno H. Therapeutic use of phage cocktail for controlling *Escherichia coli* O157:H7 in gastrointestinal tract of mice. *J Biosci Bioeng.* 2005. № 100. P. 280-287.

13. Jault P., Leclerc T., Jennes S., Pirnay J.P., Que Y.A., Resch G. et al. Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa* (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis.* 2019. № 19 (1). P. 35-45.