

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК: 579:[616-001.4-002.3]-08

**ПЛОТНИКОВ**  
**Филипп Викторович**

**КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ГНОЙНЫХ РАН С УЧЁТОМ  
СПОСОБНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОБРАЗОВЫВАТЬ БИОПЛЁНКИ**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

по специальностям 14.01.17 – хирургия  
03.02.03 – микробиология

Минск 2015



Научная работа выполнена в учреждении образования «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет»

**Научные руководители:**

**Петухов Владимир Иванович**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой хирургии ФГК и ПК учреждения образования «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет»

**Окулич Виталий Константинович**, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры клинической микробиологии учреждения образования «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет»

**Официальные оппоненты:**

**Алексеев Сергей Алексеевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

**Коломиец Наталья Дмитриевна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

**Оппонирующая организация:**

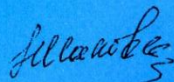
учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 26 мая 2015 г. в 13.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.05 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, rector@bsmu.by (тел. (375-17) 272 55 98).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан 24 апреля 2015г.

Учёный секретарь совета  
по защите диссертаций,  
кандидат медицинских наук, доцент



Н.В. Шаковец

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема профилактики и лечения инфекционной патологии является одной из приоритетных в здравоохранении. В общей структуре хирургической заболеваемости гнойно-воспалительные процессы занимают одно из ведущих мест и наблюдаются у 40-60% всех хирургических пациентов [Л.З Скала и соавт., 2011].

На современном этапе отмечено изменение клинической симптоматики и течения хирургической инфекции, что проявляется в учащении случаев стертых форм и атипичного течения, увеличении числа тяжело протекающих и не поддающихся стандартному лечению осложненных форм гнойных заболеваний; удлинении сроков лечения, особенно на госпитальном этапе [В.Н. Оболенский и соавт., 2009].

Интерес и постоянное внимание к этой проблеме объясняется тяжелым течением раневого процесса, сохранением тенденции к возрастанию количества длительно текущих и рецидивирующих процессов [М.И. Кузин, 2006]. Увеличение числа осложнений операционных ран и гнойно-воспалительных заболеваний многочисленными авторами связывается с широким и нерациональным использованием антибиотиков (АБ), ростом устойчивости микроорганизмов к ним, снижением резистентности макроорганизма. Пациенты с гнойными заболеваниями составляют 35-40% среди всех госпитализированных в хирургические отделения, а частота развития послеоперационных осложнений достигает в среднем 20-30%, что значительно увеличивает экономические потери общества, связанные с затратами на их лечение. В связи с этим возникает необходимость разработки новых методов диагностики и лечения, основанных на использовании результатов современной медицинской науки [В.К. Гостищев, 2013].

Среди распространённых хирургических заболеваний особое место занимают хронические раны. Зарубежные авторы этим термином объединяют группу осложнённых ран хирургического происхождения (со спонтанным расхождением краёв или нагноившиеся), а также пролежни, свищи, язвы голени и стопы [S.V. Krishna, 2014]. В отечественной литературе данный термин ассоциируется с длительно незаживающими ранами и трофическими язвами. Пролонгированный характер заживления таких дефектов позволяет прибегнуть к подобной обобщающей систематизации.

На рубеже XX-XXI столетий процесс смены ведущих возбудителей хирургический инфекций стал особенно динамичным. Так в 50-60 гг. «чумой XX века» называли стафилококк, 70-80 гг. — грамотрицательную аэробную микрофлору. Широко известен факт ассоциативной аэробно-анаэробной



микробной агрессии при гнойных хирургических заболеваниях [М.И. Кузин, 2006].

Для реализации инфекционного процесса в ране микроорганизмы должны обладать определенными количественными (инфицирующая доза) и качественными (факторы инвазивности) характеристиками. На всех этапах обследования пациентов для гнойных ран различного генеза характерно, что в них среди представителей раневой микрофлоры преобладают стафилококки и синегнойная палочка, которые выделяются как в монокультурах, так и в различных микробных ассоциациях [В.К. Гостищев, 2013].

Недостаточная эффективность проводимого лечения хирургической инфекции в определенной мере объясняется наличием у микроорганизмов действенных механизмов защиты от внешних повреждающих факторов. Повсеместное применение в медицинской практике антибактериальных препаратов широкого спектра действия способствует селекции резистентной флоры. В последнее десятилетие изучению механизмов резистентности придается особое значение [R.J. J. Palmer, 2007].

В настоящее время признано, что большинство микроорганизмов в естественных и искусственно созданных окружающих средах существует в виде структурированных, прикрепленных к поверхности сообществ – биопленок [R.J. J. Palmer, 2007]. Биопленка (БП) – микробное сообщество, характеризующееся клетками, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ, и демонстрируют изменение фенотипа, выражающееся в изменении параметров роста и экспрессии специфичных генов [R.M. Donlan, 2011].

В течение последних десятилетий основополагающие принципы и традиционные методы лечения гнойных ран подверглись существенному пересмотру. Необходимость этого шага обусловлена в первую очередь ростом числа гнойно-воспалительных заболеваний и послеоперационных гнойных осложнений, а также ухудшением общих результатов лечения при гнойной хирургической инфекции. На сегодняшний день образование БП изолятами бактерий является серьезной угрозой для практического здравоохранения. В связи с этим изучение новых подходов идентификации и исследования биопленок, реакций иммунного ответа на инфекции, связанные с ними, изменение тактики антибиотикотерапии, а также поиск механизмов воздействия на формирование и разрушение уже образованных биопленок является перспективным и актуальным научно-практическим направлением.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Связь работы с крупными научными программами, темами

Работа выполнена в соответствии с темой НИР «Изучение влияния антибактериальных препаратов, антисептиков, ферментов на способность микроорганизмов образовывать биопленку» (договор с Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований № M12M-071 от 15.04.2012г.), зарегистрированной 24.07.2012г., № государственной регистрации 20122423.

Тема диссертационной работы соответствует перечню приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь, а именно: пункту 4 «Лечебные, диагностические, профилактические и реабилитационные технологии, клеточные и молекулярно-биологические технологии в медицине, аппараты и приборы медицинского назначения», подпунктам 4.1. «Самоорганизация живых систем, закономерности течения патологических процессов, коррекция жизненно важных функций»; 4.2. «Новые технологии профилактики, диагностики, лечения и реабилитации сердечно-сосудистых, онкологических и других социально значимых заболеваний».

### Цель и задачи исследования

Цель исследования – улучшить результаты комплексного лечения пациентов с гнойными ранами за счёт воздействия на возбудителя, способного образовывать биопленку.

#### Задачи исследования:

1. Разработать и апробировать методы формирования и оценки образования биопленок *in vitro*.
2. Определить спектр микроорганизмов, способных образовывать биопленку, у пациентов с инфицированными ранами, влияние антибактериальных препаратов, антисептиков, IgG, сыворотки крови и ферментов на микробную биопленку.
3. Оценить влияние способности возбудителей хирургической инфекции формировать биопленку.
4. Разработать схему комплексного лечения пациентов с гнойными ранами с учётом способности возбудителей образовывать биопленку. Оценить эффективность разработанного комплексного лечения пациентов с гнойными ранами с учётом способности возбудителей формировать биопленку.

Объектом для решения поставленных задач послужили 82 пациента с инфекцией мягких тканей, находящихся на лечении в Республиканском научно-практическом центре «Инфекция в хирургии» в 2012-2014 годах, 10 пациентов с тяжёлыми внегоспитальными пневмониями, находящихся на лечении в отделении интенсивной терапии и реанимации УЗ «Витебская областная клиническая больница», 22 донора, 289 клинических изолятов, полученных в



микробиологической лаборатории Республиканского научно-практического центра «Инфекция в хирургии».

Предметом исследования явились клинические, иммунологические, микробиологические показатели, полученные в лабораторных и клинических исследованиях эффективности предложенного комплексного лечения гнойных ран.

#### Научная новизна

Разработаны и запатентованы: способ оценки способности образования биопленки микроорганизмами, устройство для выращивания биопленок, наконечники к ультразвуковому хирургическому аппарату «ЛОРА-Дон» для разрушения матрикса биопленки, позволяющие стандартизовать формирование и изучение биопленок.

Впервые определена способность иммуноглобулинов с ферментативной активностью, а так же сыворотки крови пациентов с инфекционными заболеваниями разрушать микробные биопленки на экспериментальной модели.

Впервые определено влияние степени способности возбудителей хирургической инфекции (*S.aureus*, *P.aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacteriaceae*) формировать биопленки на динамику раневого процесса.

Предложен комплексный метод лечения гнойных ран мягких тканей с учётом способности возбудителей формировать биопленку, основанный на применении вакуум-промывной терапии с использованием 30% раствора димексида, позволяющий сократить сроки очищения раны, появления грануляций, краевой эпителизации, а также значительно сократить сроки лечения.

#### Положения, выносимые на защиту

1. Разработаны и апробированы методы формирования микробных сообществ на стекле, в полистироловом планшете, на мембране из инертного материала. Предложенные методы индикации, качественной и количественной оценки биопленок с помощью световой, конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, а так же с помощью многоканального спектрофотометра позволяют эффективно определять биопленки и изучать их свойства. Выявлена способность сывороток и IgG разрушать бактериальную биопленку, как ответ макроорганизма на формирование биопленки возбудителями гнойных ран.

2. Установлено, что 61,5% возбудителей хирургической инфекции способны формировать биопленки. Наиболее часто биопленки формируют представители *Acinetobacter spp.* и *Enterobacteriaceae*, а также *S.aureus* и *P.aeruginosa*. Выявлено значительное повышение минимальной подавляющей концентрации антибиотиков для бактерий в составе биопленки от 2,5 до 300 раз по сравнению с планктонными формами.

3. Динамика клинической картины раны, а также длительность лихорадки и длительность пребывания в стационаре пациентов с гнойными

ранами зависят от способности выделенного возбудителя образовывать микробное сообщество – биопленку.

4. Комплексный метод лечения гнойных ран, основанный на применении вакуум-промывной терапии с использованием 30% раствора димексида, для лечения пациентов, из гнойных ран которых выделены возбудители, способные формировать биопленки, позволяет эффективно воздействовать на возбудителя в составе биопленки и сокращает сроки лечения на 6 суток.

#### Личный вклад соискателя

Постановка проблемы, формулирование цели, задач и дизайна исследования проведены совместно с научными руководителями. Личное участие автора в выполнении диссертационной работы состояло в планировании, проведении и анализе полученных результатов на всех этапах исследования.

Лично соискателем в лаборатории на кафедре клинической микробиологии УО «Витебский государственный медицинский университет» выполнены бактериологические исследования свойств биопленок. Методики изучения свойств биопленок разработаны автором совместно с научным руководителем доцентом кафедры клинической микробиологии, к.м.н. Окуличем В.К. (вклад соискателя 60%).

Лично автором в Республиканском научно-практическом центре «Инфекция в хирургии» на базе отделения гнойной хирургии УЗ «Витебская областная клиническая больница» оперировано 70 (85%) пациентов. Соискатель принимал непосредственное участие в составлении плана лечебных мероприятий, перевязках и клинических наблюдениях за пациентами на всех этапах лечения. Непосредственно автором осуществлен забор, хранение и подготовка лабораторного материала к исследованию.

Лабораторные исследования (бактериологические) проведены в условиях лаборатории УЗ «Витебская областная клиническая больница» при участии врача Е.А. Конопелько (вклад соискателя 60%).

Обработка, систематизация и анализ полученного материала, оценка и обобщение результатов исследования, формулирование выводов и практических рекомендаций, написание всех разделов диссертации и подготовка иллюстраций проведена лично автором с коррекцией научными руководителями.

Все научные результаты и положения, изложенные в диссертации, автором получены лично, что подтверждено единоличной научной публикацией в журнале, рекомендованном ВАК Республики Беларусь [7]. В совместных публикациях с доцентом В.И. Петуховым и доцентом В.К. Окуличем использована их консультативная помощь, обследование и лечение пациентов, создание базы данных, анализ результатов, формулировка выводов выполнены автором – 90 % [4]. В обзорной публикации вклад автора 60% [1]. В публикациях



по результатам лабораторных исследований приведены результаты, полученные совместно с соавторами, вклад автора 80% [2, 3, 5, 6].

Личный вклад соискателя в подготовку докладов и тезисов – до 90%, для рационализаторский предложений, патентов и инструкции по применению – до 80%.

#### **Апробация диссертации и информация об использовании её результатов**

Результаты диссертационного исследования доложены на:

- научных сессиях Витебского государственного медицинского университета (2012, 2014 годы Витебск, Беларусь);
- Международных научно-практических конференциях студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы медицины и фармации» (2012, 2013, 2014 годы Витебск, Беларусь);
- Международных научно-практических конференциях студентов и молодых ученых «Студенческая медицинская наука XXI века» (2011, 2013 годы Витебск, Беларусь);
- Научно-практической конференции с международным участием «Современные проблемы инфекционной патологии человека» (2012 год Минск, Беларусь);
- Всероссийской конференции с международным участием «Молодые учёные – медицине» (2013 год Самара, Россия)

По результатам работы получены 3 патента на полезные модели и 1 патент на изобретение. Результаты диссертационного исследования внедрены: в практическое здравоохранение в УЗ «Витебская областная клиническая больница», в УЗ «Могилёвская областная больница», в УЗ «Могилёвская городская больница скорой медицинской помощи», УЗ «Гомельская городская клиническая больница скорой медицинской помощи»; в учебный процесс в УО «Витебский государственный медицинский университет».

#### **Опубликование результатов диссертации**

По теме диссертационной работы опубликовано 29 научных работ (1 статья единолично): журнальных статей – 7, соответствуют пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (без соавторов – 1 статья), объемом 4,4 авторских листа. Публикаций в сборниках научных статей и материалов конференций – 14 (за рубежом – 1); тезисов докладов – 3 (за рубежом – 2); патентов – 4, инструкция по применению – 1.

#### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из оглавления, перечня условных сокращений, введения, общей характеристики работы, главы – аналитического обзора литературы, главы, содержащей материал и методы исследования, 2 глав,

посвященных результатам собственных исследований и их обсуждению, заключения, библиографического списка, приложения. Библиографический список включает 202 наименования (из них 85 публикаций на русском языке, 117 – на английском) и 29 публикаций соискателя. Работа содержит 13 таблиц и 25 рисунков. Полный объем диссертации – 124 страницы компьютерного текста, из них рисунки и таблицы занимают – 12, библиографический список – 18, приложения – 18 страниц.

### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

#### **Объекты и методы исследования**

В ходе разработки методов культивирования и изучения свойств биопленок использовались штаммы американской коллекции типовых культур (The American Type Culture Collection – ATCC) с известной способностью формировать биоплёнку: *S.aureus* ATCC 6538, *P.aeruginosa* ATCC 9027, *E.coli* ATCC 8739.

Изучены свойства 289 клинических изолятов, полученных из микробиологической лаборатории Республиканского научно-практического центра «Инфекция в хирургии». Забор микробиологического материала проводился в ожоговом отделении, в реанимационном отделении и в отделении гнойной хирургии УЗ «Витебская областная клиническая больница» в течение 2011-2014 года.

В ходе исследования было проведено комплексное обследование и лечение 82 пациентов с гнойно-воспалительными процессами мягких тканей, проходивших курс стационарного лечения на базе отделения гнойной хирургии УЗ «Витебская областная клиническая больница» в 2012-2014 годах. Критерии включения пациентов в исследование: наличие гнойной раны площадью раневого дефекта не >5% от площади тела, возраст от 18 лет до 80 лет, компенсация соматической патологии, наличие добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Критерии исключения: возраст меньше 18 лет или старше 80 лет, беременность, период лактации, наличие сахарного диабета, критическая ишемия конечности (при наличии раны на конечности), наличие инфекции костей и суставов, площадь раневого дефекта >5% от площади тела, декомпенсация соматической патологии, отсутствие добровольного информированного согласия.

С помощью простой рандомизации были сформированы группы. Группу контроля составили пациенты с различной способностью возбудителей формировать биопленку. В основную группу вошли пациенты, от которых выделены возбудители, способные формировать биопленку. Контрольная группа получала стандартный комплекс лечебных мероприятий [Ю.М. Гаин, 2013], основная группа получала комплекс лечебных мероприятий с учётом способности возбудителей формировать биопленку.



Группа контроля была разделена на подгруппы в зависимости от способности возбудителей формировать биопленки: в подгруппе 1 (34 человека) выделенные возбудители хирургической инфекции не обладали способностью формировать биопленки, в подгруппе 2 (31 человек) выделенные возбудители обладали способностью формировать биопленки.

Средний возраст пациентов контрольной группы подгруппы 1 составил 49 (27; 58) лет. При этом женщин было 47% (16 человек), мужчин – 53% (18 человека). Средний возраст пациентов контрольной группы подгруппы 2 составил 42 (25; 64) года. При этом женщин было 11 человек (36,5%), мужчин – 20 человек (64,5%).

Средний возраст пациентов основной группы составил 53 (50; 60) года, что статистически не отличалось от возраста лиц группы контроля ( $p > 0,05$ ). При этом женщин было 7 человек (42%), а мужчин – 10 человек (58%), что также было сопоставимо с остальными исследуемыми группами.

С помощью частотного анализа выявлено, что все наблюдаемые группы не имели достоверных отличий по возрасту и полу, а так же по нозологическим формам заболеваний, следовательно, группы можно считать сопоставимыми. Представленный материал убеждает в том, что контрольная и основная группы по этиопатогенетическим данным, возрастному и половому составу, а также сведениям анамнеза заболевания и клинической картины, констатируемым при поступлении в стационар, являются полностью сопоставимыми.

Для изучения влияния иммуноглобулинов и сыворотки крови на матрикс биопленки изучены образцы 44 пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями, а так же 21 донора. Очистка иммуноглобулинов проводилась риванол-сульфатным методом с использованием афинной хроматографии на стафилококковом протеине А.

Идентификацию аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов проводили с помощью тест-систем на автоматизированном биохимическом анализаторе АТВ Expression фирмы «bioMerieux». Для идентификации использовались стрипы: ID 32 STAPH – для стафилококков, ID 32 E – для энтеробактерий, ID 32 GN – для грамотрицательных палочек.

Оценка чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводилась с помощью тест-систем. Для определения чувствительности использовались стрипы фирмы «bioMerieux, которые в автоматическом режиме учитывали на биохимическом анализаторе АТВ Expression.

При оценке эффективности лечения учитывали динамику раневого процесса. Определяли сроки очищения раны, появления грануляций, начала краевой эпителизации. Динамика клинической симптоматики изучалась объективно по шкалам: самочувствие пациент оценивал по 5 балльной шкале,

большому количеству баллов соответствовало лучшее состояние; наличие болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале (оценка проводилась по адаптированной с изменениями числовой рейтинговой шкале The World Union of Wound Healing Societies, 2004). Объективная оценка – выраженность отека, гиперемии мягких тканей, количество раневого отделяемого, определял врач по адаптированной 10-балльной шкале (А.В. Бледнов, 2007). Большому количеству баллов соответствовало более выраженные проявления. Объективная шкала: полное отсутствие признака – 1; частичное сохранение невыраженных проявлений – 2; сохранение невыраженных проявлений – 3; слабые проявления – 4; незначительные проявления – 5; умеренные проявления – 6; значительные проявления – 7; сильные проявления – 8; выраженные проявления – 9; значительно выраженные проявления – 10. Группы сравнивались на следующий день после начала лечения, а также на 5 и 10 сутки.

Лечебные мероприятия у пациентов с гнойно-воспалительными процессами были комплексными и включали хирургическое и медикаментозное лечение. Проводилось этиотропное лечение (антибактериальное), направленное на подавление возбудителей заболевания, патогенетическое, направленное на регуляцию патофизиологических процессов в очаге воспаления, и симптоматическое, способствующее восстановлению нарушенных функций организма.

Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета прикладных программ «Statistica 10.0 Advanced» и «Excel». Корреляционный анализ проводился с использованием непараметрического метода Спирмена (О.Ю. Реброва, 2002).

Определена доля экономии от сокращения периода лечения пациента в стационаре (Эх) по формуле (В.С. Глушанко, 2003):

$$Эх = K \times (Xx - Xy), \quad (1)$$

где K – средняя стоимость одного койко-дня лечения пациента в соответствующем стационаре;

Xx и Xy – среднее количество койко-дней лечения одного случая заболевания в базовом и предлагаемом вариантах.

#### Результаты собственных исследований

**Результаты изучения микробных биопленок с использованием новых методов исследования**

В ходе исследования разработаны методы формирования биопленки на стекле с помощью устройства для формирования биопленок, на мембране из инертного материала, в лунках полистиролового планшета, методы индикации биопленки спектрофотометрически, с помощью световой микроскопии, лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, методы оценки толщины и массы микробной биопленки, а так же методы определения минимальной подавляющей



концентрации (МПК) для бактерий в составе биопленки и методы разрушения матрикса биопленки ультразвуком, которые позволили определить, что 61,5% изученных штаммов в той или иной степени способны формировать биопленку. Наиболее часто способность формировать биопленки встречается у представителей *Acinetobacter spp.* (100%) и *Enterobacteriaceae* (100%). Так же часто биопленку формируют представители *S.aureus* (65%), *P.aeruginosa* (61%). Наименее часто образуют микробные сообщества представители *S.epidermidis* (41,6%) и *Streptococcus spp.* (33%).

Изучена способность широко распространенных в клинической практике антисептиков. Обнаружено, что димексид и «Инол» (основные компоненты 73,8% этанол, 3,8% изопропиловый спирт), наиболее интенсивно разрушают матрикс биопленки, при этом изменение оптической плотности составило  $0,425 \pm 0,01$  единиц оптической плотности ( $E_{оп}$ ) и  $0,375 \pm 0,008 E_{оп}$ , соответственно. Наиболее высокую активность показал раствор изопропилового спирта –  $0,568 \pm 0,012 E_{оп}$  (один из действующих компонентов «Инола»). В меньшей степени оказались эффективны «Септоцид-синерджи» (основные компоненты 70% этанол, бигуаниды 3,5%) –  $0,203 \pm 0,009 E_{оп}$  и диоксидин –  $0,087 \pm 0,003 E_{оп}$ . Не разрушали биопленку такие антисептики, как фурацилин, хлоргексидин, перекись водорода. Все антисептики исследовались в  $\frac{1}{2}$  дифференцирующей концентрации, экспозиция 30 минут. Таким образом, наиболее интенсивно разрушает биопленку раствор изопропилового спирта и димексид, однако для местного лечения ран может быть рекомендован только димексид.

При исследовании способности сывороток крови разрушать экзополимерный матрикс биопленки *S. aureus* оказалось, что она была достоверно ( $p < 0,005$ ) ниже у пациентов с гнойно-воспалительными процессами –  $0,260$  ( $0,223$ ;  $0,309$ )  $E_{оп}$ , чем у доноров –  $0,309$  ( $0,298$ ;  $0,355$ )  $E_{оп}$ . Результаты способности сывороток разрушать матрикс биопленки *P.aeruginosa* имели ту же тенденцию, что и результаты, полученные для биопленки *S. aureus*.

При исследовании способности препаратов IgG, выделенных из сывороток крови пациентов, расщеплять матрикс биопленки *S. aureus* выявлено, что максимальная активность IgG наблюдалась в группе пациентов с тяжелыми пневмониями, где она была достоверно выше, чем в группах пациентов с хроническими и распространенными гнойно-воспалительными процессами. Не обнаружено корреляций способности IgG к расщеплению матрикса биопленки *S. aureus* с клинико-лабораторными проявлениями заболеваний. Обнаружено, что у IgG пациентов с инфекционным процессом, у которых был выделен в качестве возбудителя *S. aureus*, уровень способности разрушать матрикс биопленки –  $0$  ( $0$ ;  $0,006$ )  $E_{оп}$  был достоверно ( $p = 0,009$ ) ниже, чем у IgG пациентов, у которых была выделена другая микрофлора –  $0,009$  ( $0,003$ ;  $0,018$ )  $E_{оп}$ .

При сравнении минимальной подавляющей концентрации для 90% изолятов (МПК<sub>90</sub>) *S.aureus* в составе биопленки к АБ обнаружено, что для левофлоксацина МПК выросла в 4 раза, для ломефлоксацина – в 2,5 раза, для моксифлоксацина – в 11 раз, для ципрофлоксацина – в 7,5 раз, для цефалексина – в 18 раз, для цефотаксима – в 8 раз, для амикацина – в 12 раз, для ванкомицина – в 300 раз.

При сравнении МПК<sub>90</sub> *P.aeruginosa* в составе биопленки к АБ обнаружено, что для амикацина МПК выросла в 8 раз, для колистина – в 32 раза, для левофлоксацина – в 3 раза, для моксифлоксацина – в 12 раз, для ципрофлоксацина – в 12 раз, для цефоперазона + клавуланат – в 6,5 раз, для пиперациллина + клавуланат – в 50 раз.

При оценке чувствительности планктонных форм *S.aureus* к антибактериальным препаратам выявлено, что количество чувствительных к моксифлоксацину и левофлоксацину изолятов оказалось больше, чем к ципрофлоксацину, однако при определении чувствительности *S.aureus* в составе биопленки, количество чувствительных к моксифлоксацину и левофлоксацину изолятов оказалось в 2 раза меньше, чем к ципрофлоксацину. Изоляты *P.aeruginosa* в составе биопленки были резистентны ко всем изученным препаратам.

#### Результаты клинико-лабораторных исследований пациентов с гнойными ранами

При изучении частоты встречаемости отдельных видов и групп микроорганизмов, выделенных от пациентов с гнойными ранами, за период с 1998 по 2014 год статистически значимых изменений в пейзаже микробной флоры выявлено не было. На протяжении данного периода возбудителями хирургической инфекции мягких тканей наиболее часто были представители грамположительной флоры, представленной в основном золотистым стафилококком (57%).

При изучении чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам обнаружено, что в период с 1998 по 2014 год отмечается увеличение резистентности энтеробактерий и псевдомонад к ципрофлоксацину (с 0% до 56,25% и с 30% до 79,2%, соответственно). В то же время наблюдалось снижение резистентности псевдомонад к цефтазидиму с 88,89% до 41,4%.

При изучении динамики раневого процесса и клинических показателей в зависимости от способности возбудителя формировать биопленку обнаружено, что длительность лихорадки у пациентов первой и второй контрольных подгрупп с гнойными ранами составила 0 (0;3) суток и 3 (2;8) суток, соответственно,  $p = 0,0007$ . Средняя длительность госпитализации в исследуемых подгруппах также статистически значимо отличалась в зависимости от способности возбудителя образовывать биопленку: в первой подгруппе средний койко-день составил 11 (8; 18) суток, во второй – 21 (11; 38) суток,  $p = 0,001$ .



Очищение гнойной раны у пациентов первой контрольной подгруппы происходило в среднем на 5,5 (4; 7) сутки, тогда как у пациентов второй подгруппы очищение раны происходило на 9,5 (4; 16) сутки, различия статистически достоверны при  $p=0,02$ . У пациентов первой подгруппы появление грануляций в ране наблюдалось на 4,5 (4; 7) сутки, тогда как во второй подгруппе признаки грануляции появлялись лишь на 6,5 (4; 14) сутки,  $p=0,03$ . Начало краевой эпителизации при выявлении способности возбудителя к формированию биопленки также наступало позже, чем в случае отсутствия у возбудителя способности образовывать биопленку, соответственно, во второй подгруппе эпителизация появлялась на 9 (4; 16) сутки, в первой – на 7 (5; 8) сутки,  $p=0,02$ . Полученные результаты указывают на отсутствие отличий в клинической картине до лечения и в первые сутки лечения, что не позволяет назначить лечение с учётом способности возбудителей образовывать биопленку, основываясь только на клинических показателях. Однако наличие статистически значимых отличий на 10-е сутки указывает на недостаточную эффективность лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей, возбудители которой способны формировать биопленки.

Нами предложен и внедрён метод лечения пациентов с гнойными ранами. В случае, если возбудитель хирургической инфекции способен формировать биопленку, то в составе комплексного лечения рекомендуем использовать антибиотики согласно результатам микробиологического исследования, а для местного лечения гнойных ран использовать вакуум-промывной дренаж с применением 30% раствора димексида в качестве промывной жидкости, для разрушения матрикса биоплёнки.

Наложение повязки для вакуум-промывного дренажа состоит из нескольких этапов. В операционной под внутривенным наркозом обрабатывают операционное поле. Выполняют хирургическую обработку гнойного очага. На дно раны укладывают трубку для орошения. Налаживают систему для вакуумной терапии ран: укрывают рану пористым материалом с трубкой, обрабатывают кожу вокруг раны 70% этиловым спиртом для обезжиривания, герметично закрывают раневой дефект покрытием хирургическим антимикробным разрезаемым, подсоединяют неспадающую дренажную трубку к источнику вакуума, на котором выставляют уровень отрицательного давления -125 мм рт.ст. Через трубку для орошения налаживают промывание раны 30% раствором димексида со скоростью 30 капель в минуту. Контрольные смены повязок проводят через 2-5 дней до появления полного очищения раны и появления грануляций.

В ходе сравнения клинических показателей пациентов, от которых выделены возбудители способные формировать биопленку, при проведении стандартного лечения (контрольная подгруппа 2) и предложенного комплексного

лечения (основная группа) получены статистически значимые отличия. Длительность лихорадки у пациентов второй контрольной подгруппы и основной группы составила 3 (2;8) суток и 2 (0;3) суток, соответственно,  $p=0,02$ . Средняя длительность лечения в исследуемых группах также статистически значимо отличалась: в контрольной группе лечение длилось 21 (11; 38) сутки, а в основной – 15 (12; 20) суток,  $p=0,03$ .

Очищение гнойной раны у пациентов второй подгруппы происходило на 9,5 (4; 16) сутки, тогда как у пациентов основной группы на 4 (4; 4) сутки, различия статистически достоверны при  $p=0,005$ . У пациентов контрольной группы появление грануляций в ране наблюдалось на 6,5 (4; 14) сутки, тогда как в основной группе признаки грануляции появлялись на 4 (4;5) сутки,  $p=0,04$ . Начало краевой эпителизации при использовании стандартного лечения также наступало позже, чем в случае использования лечения с учётом способности возбудителей формировать биопленку, соответственно, в основной группе краевая эпителизация появлялась на 5 (4; 6) сутки, в контрольной – на 9 (4; 16) сутки,  $p=0,004$ .

После использования вакуумной повязки контаминация раны снижалась: от отсутствия роста до  $10^3$  колоний образующих единиц на  $см^3$ . Снижение контаминации раны благоприятно повлияло на дальнейшее закрытие раневого дефекта аутокожей или местными тканями на 5,5 (4; 6) сутки.

Использование разработанного комплексного лечения гнойных ран с учетом способности возбудителя формировать биопленку позволило сократить сроки лечения пациентов данной категории на 6 суток ( $p=0,03$ ).

В результате чего доля экономии от сокращения периода лечения пациента в стационаре (Эх) составила:  $Эх=471\ 144 \times (21-15) = 2\ 862\ 864$  белорусских рублей.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

1. Разработаны и апробированы методы формирования биопленки на стекле с помощью предложенного устройства, методы индикации биопленки спектрофотометрически, с помощью световой микроскопии, ЛСК-микроскопии, а также методы оценки толщины и массы микробной биопленки, что позволило провести последующие бактериологические и клинические исследования. При исследовании способности сывороток крови разрушать экзополимерный матрикс биопленки *Staphylococcus aureus* оказалось, что она была достоверно ( $p < 0,01$ ) ниже у пациентов с гнойно-воспалительными процессами –  $0,260 E_{оп}$ , чем у доноров –  $0,309 E_{оп}$ . Результаты способности сывороток разрушать матрикс биопленки *Pseudomonas aeruginosa* имели ту же тенденцию, что и результаты, полученные для биопленки *Staphylococcus aureus*. У пациентов с инфекционными процессами уровень активности был достоверно ( $p = 0,005$ ) ниже, чем у доноров, соответственно,  $0,303 E_{оп}$  и  $0,348 E_{оп}$ . Обнаружено, что у IgG пациентов с инфекционным процессом, у которых был выделен в качестве возбудителя *Staphylococcus aureus* уровень способности разрушать матрикс биопленки был достоверно ( $p < 0,01$ ) ниже, чем у IgG пациентов, у которых была выделена иная микрофлора [1, 2, 3, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 20, 21, 24, 25, 26].

2. Наиболее часто способность формировать биопленки встречается у представителей *Acinetobacter spp.* (100%) и *Enterobacteriaceae* (100%). Часто биопленку формируют представители *Staphylococcus aureus* (65%), *Pseudomonas aeruginosa* (61%). 47% изолятов *Pseudomonas aeruginosa* в высокой степени обладают способностью формировать биопленки. В то же время представители *Staphylococcus epidermidis* и *Streptococcus spp.* наименее часто образуют микробные сообщества (41,6% и 33 %, соответственно). С помощью предложенной экспериментальной модели для определения действия химиопрепаратов на микробные сообщества обнаружено, что среди антисептиков, широко распространенных в клинической практике, наиболее эффективен в отношении биопленки димексид, изменение оптической плотности составило  $0,425 E_{оп}$ . В меньшей степени оказались эффективны антисептик на основе бигуанидов –  $0,203 E_{оп}$  и диоксидин –  $0,087 E_{оп}$ . Разработанный метод определения МПК для бактерий в составе биопленки позволил выяснить, что способность бактерий формировать биопленку увеличивает МПК<sub>90</sub> различных антибиотиков в 2,5-300 раз по сравнению с планктонными формами. Наиболее эффективными в отношении *S. aureus* в составе биопленки являются антибиотики из группы фторхинолонов. При оценке чувствительности планктонных форм *Staphylococcus aureus* к антибактериальным препаратам выявлено, что 100% клинических изолятов оказались чувствительны к моксифлоксацину и

левофлоксацину, 93% – к ципрофлоксацину. Однако, при определении чувствительности *Staphylococcus aureus* в составе биопленки, количество чувствительных клинических изолятов к ципрофлоксацину оказалась в 2 раза выше, чем к моксифлоксацину и левофлоксацину. Изоляты *Pseudomonas aeruginosa* в составе биопленки оказались резистентны ко всем изученным препаратам [5, 7, 8, 13, 16, 18, 22, 23, 27, 28].

3. Клинические характеристики раны, а также длительность лихорадки и длительность пребывания в стационаре пациентов с гнойными ранами зависят от способности выделенного возбудителя образовывать микробное сообщество – биопленку. В случае, если возбудитель обладает способностью формировать биопленку, сроки очищения раны увеличиваются на 4 суток ( $p = 0,02$ ), появления грануляций – на 2 суток ( $p = 0,03$ ), начала краевой эпителизации – на 2 суток ( $p = 0,02$ ). Период лихорадки увеличивается на 3 суток ( $p = 0,0007$ ), а длительность госпитализации на 10 суток ( $p = 0,001$ ) у пациентов, выделенный возбудитель которых способен образовывать биопленку [4, 15, 17].

4. Предложен комплексный метод, основанный на применении вакуум-промывной терапии с использованием 30% раствора димексида, для лечения пациентов, из гнойных ран которых выделены возбудители, способные формировать биопленки. Использование разработанного метода комплексного лечения гнойных ран с учетом способности возбудителя формировать биопленку позволяет сократить сроки очищения раны на 5,5 суток ( $p = 0,005$ ), появления грануляций на 2,5 суток ( $p = 0,04$ ), появления краевой эпителизации на 4 суток ( $p = 0,004$ ), длительность лихорадки на одни сутки ( $p = 0,02$ ), а сроки лечения на 6 суток ( $p = 0,03$ ), что свидетельствует об эффективности и целесообразности применения предложенного комплексного лечения у наблюдавшейся категории пациентов [7, 19, 29].

### Рекомендации по практическому использованию результатов

1. При госпитализации пациента в хирургический стационар с гнойной раной мягких тканей рекомендуем проводить комплексное клиничко-лабораторное обследование, а также микробиологическое исследование раневого отделяемого. При этом необходимо, помимо идентификации возбудителя и определения его чувствительности к антибактериальным препаратам, определять способность микроорганизма формировать биопленку.

2. В случае, если возбудитель хирургической инфекции способен формировать биопленку, необходимо использовать для местного лечения гнойных ран вакуум-промывной дренаж с применением 30% раствора димексида в качестве промывной жидкости [29].

3. В случае, если возбудитель хирургической инфекции способен формировать биопленку, необходимо определять чувствительность бактерий в составе биопленки к антибактериальным препаратам и на основании полученных



результатов использовать наиболее эффективные антибиотики. При наличии показаний для системной антибактериальной терапии, предпочтительно использовать представителей фторхинолонового ряда (ципрофлоксацин и др.).

#### Список публикаций соискателя учёной степени

##### Статьи в журналах

1. Окулич, В.К. Роль микробных биопленок в патогенезе инфекционных процессов на современном этапе / В.К. Окулич, Ф.В. Плотников, А.А. Кабанова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 4. – С. 70-82.
2. Кабанова, А.А. Метод определения способности микроорганизмов-возбудителей гнойно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области формировать биопленки / А.А. Кабанова, Ф.В. Плотников // Современная стоматология. – 2013. – № 1. – С.82-84.
3. Роль абзимной активности иммуноглобулинов класса G у пациентов с хирургической инфекцией / В.К. Окулич, С.А. Сенькович, Ф.В. Плотников, А.А. Кабанова, Е.Л. Мацкевич // Хирургия. Восточная Европа. – 2013. – №2 (06). – С.6-14.
4. Особенности клинического течения раневого процесса в зависимости от способности возбудителя формировать биопленку / В.И. Петухов, В.К. Окулич, Ф.В. Плотников, С.А. Сенькович // Вестн. ВГМУ. – 2013. – Т. 12, № 4. – С. 100–105.
5. Влияние способности микроорганизмов формировать биоплёнку на их чувствительность к антибактериальным препаратам / Ф.В. Плотников, В.К. Окулич, А.А. Кабанова, В.Е. Шилин // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2014. – №2. – С. 52-60.
6. Оценка способности сывороток крови, иммуноглобулинов g пациентов с гнойно-воспалительными процессами и ряда ферментов к разрушению экзополимерного матрикса биопленок / В.К. Окулич, С.А. Сенькович, Ф.В. Плотников, А.А. Кабанова // Хирургия. Восточная Европа. – 2014. – №3 (11). – С. 9-17.
7. Плотников, Ф.В. Комплексное лечение пациентов с гнойными ранами в зависимости от способности микроорганизмов-возбудителей формировать биопленку / Ф.В. Плотников // Новости хирургии. – 2014. – Т. 22, № 5. – С. 575-581.

##### Статьи в сборниках научных трудов и материалах конференций

8. Динамика пейзажа микробной флоры у пациентов с гнойными ранами / Ф.В. Плотников, Е.В. Янковский, В.К. Окулич, С.Д. Федянин // Студенческая медицинская наука XXI века: материалы VIII Междунар. науч.-практ. конф. – Витебск: ВГМУ, 2008. – С. 50-54.
9. Плотников, Ф.В. Визуализация биопленок с помощью световой микроскопии / Ф.В. Плотников, А.А. Кабанова, Н.Ю. Богдан // Студенческая медицинская наука XXI века: материалы XI Междунар. науч.-практ. конф. – Витебск: ВГМУ, 2011. – С. 203-204.



10. Визуализация биоплёнок с помощью конфокальной и световой микроскопии / Ф.В. Плотников, В.К. Окулич, А.А. Кабанова, Н.Ю. Богдан, С.А. Сенькович // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. Вып. 4 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, ГУ «Респ. науч.-практ. центр эпидемиологии и микробиологии»; редкол.: Г.М. Игнатъев (гл. ред.) [и др.]. – Минск: ГУ «Респ. науч. мед. б-ка», 2011. – С.183-186.

11. Микробные биопленки в гнойной челюстно-лицевой хирургии и методы их изучения / А.А. Кабанова, Ф.В. Плотников, В.К. Окулич, Н.Ю. Богдан / Материалы съезда стоматологов Республики Беларусь. – Минск, 24-26 октября 2012 г. – Минск, 2012. – С. 435-437.

12. Способ формирования микробных биоплёнок / В.К. Окулич, А.А. Кабанова, Ф.В. Плотников, В.П. Булавкин // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 67-й научн. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 2012 г. - Витебск: ВГМУ, 2012. – С. 102-103.

13. Чувствительность *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам и её связь с биоплёнкообразованием / Ф.В. Плотников, А.А. Кабанова, Н.Ю. Богдан, В.А. Прищепенко, М.В. Яцыно, В.Ю. Земко // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 64 итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 2012 г. – Витебск: ВГМУ, 2012. – С. 366-367.

14. Оценка способности иммуноглобулинов пациентов с хирургической инфекцией к разрушению экзополисахаридного матрикса биоплёнок / Ф.В. Плотников, В.К. Окулич, А.А. Кабанова, С.А. Сенькович // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. Вып. 5 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, ГУ «Респ. науч.-практ. центр эпидемиологии и микробиологии»; редкол.: Л.П. Титов (гл. ред.) [и др.]. – Минск: ГУ «Респ. науч. мед. б-ка», 2012. – С.294-297.

15. Плотников, Ф.В. Клинические особенности инфекционного процесса обусловленные биологическими свойствами микроорганизмов / Ф.В. Плотников // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 65 итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 2013 г. – Витебск: ВГМУ, 2013. – С. 58-59.

16. Плотников, Ф.В. Эффективность антисептиков в отношении матрикса микробных биоплёнок / Ф.В. Плотников, А.А. Кабанова // Студенческая медицинская наука XXI века: материалы XIII Междунар. науч.-практ. конф. – Витебск: ВГМУ, 2013. – С. 222-223.

17. Плотников, Ф.В. Особенности этиологии и течения гнойно-воспалительных процессов мягких тканей на современном этапе / Ф.В. Плотников // Аспирантские чтения 2013: материалы Всероссийской конференции с международным участием «Молодые учёные - медицине» - Самара: ГБОУ ВПО СамГМУ, 2013. – С. 34-36.

18. Плотников, Ф.В. Изучение чувствительности клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa* к антибактериальным препаратам и её связь с формированием биоплёнки / Ф.В. Плотников, В.К. Окулич, А.А. Кабанова // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. Вып. 6 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр эпидемиологии и микробиологии; под ред. Л. П. Титова– Минск: ГУ РНМБ, 2013.– С.237-240.

19. Особенности лечения гнойных ран при наличии микроорганизмов образующих биоплёнки / В.И. Петухов, В.К. Окулич, В.П. Булавкин, Ф.В. Плотников // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 69-й научн. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 2014 г. - Витебск: ВГМУ, 2014. С. 18-19.

20. Метод определения способности сывороток крови и поликлональных иммуноглобулинов G разлагать экзополимерный матрикс биоплёнок / С.А. Сенькович, В.К. Окулич, А.В. Корнилов, Ф.В. Плотников, Н.В. Железняк // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 69-й научн. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 2014 г. - Витебск: ВГМУ, 2014. С. 20-21.

21. Способность сывороток крови пациентов с хирургической инфекцией разрушать экзополимерный матрикс биопленки, образованный штаммом золотистого стафилококка / А.В. Корнилов, Е.А. Груммо, Ф.В. Плотников, М.Н. Юла, Н.Н. Козич, Н.Э. Колчанова // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 66 итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 2014 г. – Витебск: ВГМУ, 2014. – С. 97-99.

#### Тезисы докладов

22. Кабанова, А.А. Разрушение матрикса биопленки с помощью ультразвука / А.А. Кабанова, Ф.В. Плотников // Вопросы экспериментальной и клинической стоматологии: сб. науч. тр. - Вып. 10. - Харьков: ХНМУ, 2013. – С. 75-76.

23. Чувствительность клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам и её связь с биоплёнкообразованием / Ф.В. Плотников [и др.] // Актуальные вопросы гнойно-септической хирургии: материалы конференции, Бобруйск, 27-28 сентября 2012г. – Бобруйск, 2012. – С 301-303.

24. Pohodenko-Chudakova, I. O. Bacterial biofilms in chronic inflammatory diseases of the maxillofacial region / I. O. Pohodenko-Chudakova, A. A. Kabanova, F. V. Plotnikov // Abstracts from the XXII Congress of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery, Prague, Sept. 23–26. 2014. – Prague, 2014. – P.1110.



## Патенты

25. Устройство для выращивания биопленки: (51) МПК (2006.01) C12 M1/00 (21) и 20111059 (22) 2011.12.26. (71) Учреждение образования «Витебский государственный медицинский университет» (ВУ) / В.К. Окулич, А.А. Кабанова, Ф.В. Плотников. – № 8420. Заявл. 26. 12.2011. – Опубл. 30.08.2012 // Афіцыйны бюлетэнь. Вынаходства, карысныя мадэлі, прамысловыя ўзоры. – 2012. – № 4 (87). – С. 208.

26. Способ оценки способности образования биопленки микроорганизмами: (51) МПК (2006.01) C12Q 1/02 (21) а 20110572(71) Учреждение образования «Витебский государственный медицинский университет» (ВУ) / А.А. Кабанова, В.К. Окулич, Ф.В. Плотников. – № 17673. Заявл. 04. 05.2011. // Афіцыйны бюлетэнь. Вынаходства, карысныя мадэлі, прамысловыя ўзоры. – 2013. – № 5. – С.109-110.

27. Наконечник к ультразвуковому хирургическому аппарату «ЛОРА-Дон» для разрушения матрикса биопленки: (51) МПК (2006.01) C12 N13/00 (21) и 20130288 от 04.04.2013г. (71) Учреждение образования «Витебский государственный медицинский университет» (ВУ) / В.К. Окулич, В.С. Куницкий, А.А. Кабанова, Ф.В. Плотников.– № 9652. Заявл. 04. 04.2013. // Афіцыйны бюлетэнь. Вынаходства, карысныя мадэлі, прамысловыя ўзоры. – 2013. – № 5. – С. 201.

28. Наконечник к ультразвуковому хирургическому аппарату «ЛОРА-Дон» для разрушения матрикса биопленки: (51) МПК (2006.01) C12 N13/00 (21) и 20130737 от 13.09.2013г. (71) Учреждение образования «Витебский государственный медицинский университет» (ВУ) / В.К. Окулич, В.С. Куницкий, А.А. Кабанова, Ф.В. Плотников.– № 10021. Заявл. 13.09.2013г. // Афіцыйны бюлетэнь. Вынаходства, карысныя мадэлі, прамысловыя ўзоры. – 2014. – № 2. – С. 146-147.

## Инструкция по применению

29. Метод лечения гнойных ран мягких тканей, вызванных возбудителями, способными формировать биопленку: инструкция по применению №076-0714, утв. Министерством здравоохранения Республики Беларусь от 10.09.2014 г. / Витебск. гос. мед. ун-т, авт.- сост. В.И. Петухов, В.К. Окулич, В.П. Булавкин, А.А. Кабанова, Ф.В. Плотников. – Витебск: ВГМУ 2014. – 10 с.

## РЭЗЮМЭ

### Плотнікаў Філіп Віктаравіч Комплекснае лячэнне гнойных ран з улікам здольнасцей ўзбуджальнікаў утвараць біяплёнкі

**Ключавыя словы:** гнойна-запалены працэс, хірургічная інфекцыя, біяплёнкі, антыбіётыкарэзістэнтнасць.

**Мэта даследавання:** палепшыць вынікі комплекснага лячэння пацыентаў з гнойнымі ранами з улікам здольнасці ўзбуджальнікаў утвараць біяплёнкі.

**Метады даследавання:** эксперыментальныя, клінічныя, мікрабіялагічныя, статыстычныя.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** упершыню распрацаваны і запатэнтаваны спосаб ацэнкі здольнасці ўтварэння біяплёнкі мікраарганізмамі, абсталяванне для вырошчвання біяплёнак, наканечнікі да ўльтрагукавога хірургічнага апарата «ЛОРА-Дон» для разбурэння матрыкса біяплёнкі. Упершыню вызначана здольнасць імунаглабулінаў з фермантатыўнай актыўнасцю, а таксама сывараткі крыві пацыентаў з інфекцыйнымі захворваннямі разбурыць мікробныя біяплёнкі ў эксперыменце. Упершыню вызначаны ўплыў ступені здольнасці ўзбуджальнікаў хірургічнай інфекцыі (*S.aureus*, *P.aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacteriaceae*) фарміраваць біяплёнкі на дынаміку ранавага працэсу. Упершыню прапанаваны комплексны метады лячэння гнойных ран мяккіх тканак з улікам здольнасці ўзбуджальнікаў фарміраваць біяплёнку, заснаваны на прымяненні вакуум-прамыўнай тэрапіі з выкарыстаннем 30% раствору дымексіду, які дазваляе скараціць тэрміны ачышчэння раны, з'яўленне грануляцый, крававай эпітэлізацыі, а таксама значна скараціць тэрміны лячэння.

**Рэкамендацыі па выкарыстанні вынікаў:** спосаб лячэння гнойных ран мяккіх тканак з улікам здольнасці ўзбуджальнікаў фарміраваць біяплёнку прымянямы ў аддзяленнях гнойнай хірургіі стацыянараў.

**Галіна прымянення:** гнойная хірургія.



## РЕЗЮМЕ

**Плотников Филипп Викторович**

**Комплексное лечение гнойных ран с учётом способности возбудителей образовывать биопленки**

**Ключевые слова:** гнойно-воспалительный процесс, хирургическая инфекция, биопленки, антибиотикорезистентность.

**Цель исследования:** улучшить результаты комплексного лечения пациентов с гнойными ранами с учётом способности возбудителей образовывать биопленки.

**Методы исследования:** экспериментальные, клинические, микробиологические, статистические.

**Полученные результаты и их новизна:** впервые разработаны и запатентованы способ оценки способности образования биопленки микроорганизмами, устройство для выращивания биопленок, наконечники к ультразвуковому хирургическому аппарату «ЛОРА-Дон» для разрушения матрикса биопленки. Впервые определена способность иммуноглобулинов с ферментативной активностью, а так же сыворотки крови пациентов с инфекционными заболеваниями разрушать микробные биопленки в эксперименте. Впервые определено влияние степени способности возбудителей хирургической инфекции (*S.aureus*, *P.aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacteriaceae*) формировать биопленки на динамику раневого процесса. Впервые предложен комплексный метод лечения гнойных ран мягких тканей с учётом способности возбудителей формировать биопленку, основанный на применении вакуум-промывной терапии с использованием 30% раствора димексида, позволяющий сократить сроки очищения раны, появления грануляций, краевой эпителизации, а также значительно сократить сроки лечения.

**Рекомендации по использованию результатов:** способ лечения гнойных ран мягких тканей с учётом способности возбудителей формировать биопленку применим в отделениях гнойной хирургии стационаров.

**Область применения:** гнойная хирургия.

## SUMMARY

**Plotnikov Philipp Victorovich**

**A comprehensive treatment of the purulent wounds considering the ability of pathogen to form biofilms**

**Key words:** inflammatory processes, surgical infection, biofilms, antibiotic resistance.

**The aim of examination was** to improve the treatment results of patients with purulent wounds, taking into account the ability of pathogens to form biofilms.

**Methods:** experimental, clinical, microbiological, statistical.

**Results and their novelty:** first developed and patented a method of estimating the ability of biofilm formation by microorganisms, an apparatus for growing biofilms, tips to ultrasonic surgical devices "Laura Don" for the destruction of the matrix of the biofilm. First determine the ability of the immunoglobulins with enzymatic activity, as well as serum of patients with infectious diseases, to destroy microbial biofilm experiments. First determined the effect of raising the ability of agents of surgical infections (*S.aureus*, *P.aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacteriaceae*) to form a biofilm on the dynamics of the wound healing process. First proposed a comprehensive method of treatment of purulent wounds of soft tissues, taking into account the ability of pathogens to form a biofilm, based on the use of vacuum-washing treatment using a 30% solution Dimexidum, reducing time wound cleansing, marginal epithelization, and significantly reduce the time of treatment.

**Recommendations for the application:** method for the treatment of purulent wounds of soft tissues, taking into account the ability of pathogens to form biofilms applicable to offices contaminated surgery hospitals.

**Fields of application:** inflammatory surgery.



*Научное издание*

**Плотников Филипп Викторович**

**Комплексное лечение гнойных ран с учётом способности возбудителей  
образовывать биоплёнки**

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

по специальностям 14.01.17 – хирургия, 03.02.03 – микробиология

Подписано в печать 22.04.2015г. Формат 64x84 1/16

Бумага типографская №2. Гарнитура Times New Roman. Усл. печ. л. 1,51

Тираж 60 экз. Заказ № 396

Издательство УО «Витебский государственный медицинский университет»

ЛП № 02330/453 от 30.12.2013г.

Отпечатано на ризографе УО «Витебский государственный медицинский  
университет»,

пр-т. Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск