

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

© *Иванов Д.А.¹, Калущкий П.В.², Дубровин Г.М.³, Медведева О.А.²*

¹Лыткаринская городская больница, Лыткарино, Московская область;
²кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии, ³кафедра травматологии и ортопедии
Курского государственного медицинского университета, Курск
E-mail: IvanovDA2001@mail.ru

С целью исследования синергетического эффекта было изучено влияние сочетанного применения кровезаменителя перфторан и антибиотиков линкомицин, ципролет и цефотаксим на уровень их минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК) в опытах *in vitro* с помощью метода разведений в агаре с использованием коллекционных штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636 и *Candida albicans* NCTC 2625. Установлено, что перфторан не оказывает антибактериального действия в отношении исследуемых штаммов. Введение в питательную среду комбинации перфторана и антибактериальных препаратов снижает МПК и МБК. Этот эффект наиболее выражен при комбинировании перфторана с цефотаксимом – снижение МПК в 8-32 раза, а МБК в 4-64 раза. У ципролета и линкомицина этот эффект наблюдался в отношении отдельных культур и не более чем в 2-4 раза. Обнаруженный эффект объясняется вступлением факультативных анаэробов в фазу вегетации, что снижает их устойчивость к действию антибактериальных препаратов.

Ключевые слова: гнойные осложнения в хирургии, антибиотики, перфторан, цефотаксим, линкомицин, ципролет.

EXPERIMENTAL GROUNDS FOR POSSIBILITIES OF IMPROVING ANTIBACTERIAL THERAPY OF INFECTIOUS COMPLICATIONS IN SURGERY

Ivanov D.A.¹, Kalutskiy P.V.², Dubrovin G.M.³, Medvedeva O.A.²

¹Lytkarino City Hospital, Lytkarino, Moscow Region; ²Department of Microbiology, Virology, Immunology,
³Department of Traumatology and Orthopedy of Kursk State Medical University, Kursk

The combined use of Perftoran and antibiotic drugs Lincomycin, Tsiprolet, and Cefotaxime on the level of their minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) was produced "in vitro" in order to study the synergistic effect. The method of agar dilution with the collection strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, and *Candida albicans* NCTC 2625 was used. It was found, that Perftoran does not have an antibacterial effect with respect to the test strains. The combined introduction of Perftoran and antibiotic drugs into a nutrient medium reduces MIC and MBC. This effect is the highest when combining Perftoran with Cefotaxime – MIC decreased 8-32 times, MBC – 4-64 times. This effect was also observed in relation to individual cultures but not more than 2-4 times. The observed effect is due to the entry of facultative anaerobes into the vegetative phase, which reduces their resistance to the action of antibiotics.

Keywords: purulent complications in surgery, antibiotics, Perftoran, Cefotaxime, Lincomycin, Tsiprolet.

Прогноз восстановления строения и функции органов и тканей организма человека при различного рода хирургической патологии и/или травме связан как со степенью тяжести самой патологии, так и с объемом и тяжестью осложнений самого оперативного вмешательства, а также осложнений, возникающих на этапах послеоперационного периода. И одним из самых прогностически неблагоприятных является присоединение инфекции [2, 5, 11].

Традиционно в этом случае применяется комплекс мероприятий, таких как: обеспечение оттока раневого содержимого различными способами с одновременным использованием антисептиков, проточное дренирование, местное воздействие на рану различными способами (физиотерапевтиче-

ские методы, аэрация раны, местное применение лекарственных средств). В последнее время с развитием иммунологии кроме уже рутинных методов, связанных с введением человеческого иммуноглобулина, получают развитие методики стимуляции иммунного ответа пациентов. Но успешность лечения инфекционных осложнений при хирургической патологии по-прежнему сильно зависит от общей реактивности организма, а также от свойств микрофлоры, вызвавшей инфекционное осложнение. Поэтому определяющее значение в тактике ведения таких пациентов приобретает эффективная и рациональная антибиотикотерапия. Во-первых, это назначение антибиотиков широкого спектра действия на начальном этапе лечения до момента получения информации

о чувствительности высеянных из отделяемого из раны микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Далее – индивидуальный подбор наиболее эффективных для данного набора микроорганизмов антибактериальных препаратов [5, 10]. Как раз последний этап такой тактики лечения и вызывает на практике наибольшие затруднения вследствие повышения резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам и уже поэтому – фактического дефицита эффективных антибиотиков «резерва».

И если методы местного лечения можно совершенствовать (разработка новых эффективных систем приточно-аспирационного дренирования раны, применение систем капельного орошения, использование аэрированных растворов антисептиков, применение новых антисептиков, новых и ранее известных физиотерапевтических факторов изолированно и в сочетании друг с другом и т.д.) [5, 7, 12], то создание новых антибактериальных препаратов существенно затруднено. Поэтому одним из перспективных направлений повышения эффективности антибактериальной терапии следует считать изучение синергетического эффекта препаратов разных групп. Учитывая известную зависимость скорости деления микробов от концентрации кислорода непосредственно в поврежденных тканях, одним из перспективных направлений является изучение синергетического эффекта уже известных антибактериальных препаратов и лекарственных веществ, способных участвовать в переносе кислорода непосредственно в тканях. К последним относятся т.н. перфторированные углеводороды, представителем которых является разрешенный к применению кровезаменитель с газотранспортной функцией перфторан (ПФ) [1]. Его влияние на процессы регенерации различных тканей ранее изучались, в том числе и нами, и в том числе в условиях экспериментального септического воспаления [3, 4, 6, 8]. Но степень выраженности синергетического эффекта с антибактериальными препаратами ранее не изучалась.

Поэтому целью нашей работы было исследование *in vitro* синергетического эффекта трех наиболее часто применяемых в практике травматологической клиники антибактериальных препаратов линкомицин (ЛИ), ципролет (ЦИ), цефотаксим (ЦФ) и ПФ для обоснования рациональной и эффективной антибактериальной терапии инфекционных осложнений в хирургической и травматологической практике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен анализ информационных материалов микробиологической лаборатории управления Роспотребнадзора по Курской области за 2008-2014 годы о составе микрофлоры, высеваемой из отделяемого ран пациентов хирургических и травматологических отделений больниц г. Курска. На базе лаборатории кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Курского государственного медицинского университета методом серийных разведений была изучена антимикробная активность чистого ПФ в отношении тест-штаммов микроорганизмов, используемых для оценки антимикробного действия препаратов: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636 и *Candida albicans* NCTC 2625. Определяли минимальную подавляющую концентрацию препаратов (МПК) и минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) наиболее распространенных в практике лечения хирургической инфекции препаратов: линкомицин (ЛИ), ципролет (ЦИ) и цефотаксим (ЦФ), чистого ПФ, а также указанных антибиотиков в сочетании с ПФ. В каждом случае проводили 10 наблюдений, по результатам которых определяли кратность изменения МБК и МПК между группами с чистыми антибиотиками и их сочетанным применением с ПФ. Определяли широту доверительного интервала (t) для $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования было установлено, что препарат ПФ не имеет бактериостатической и бактерицидной активности в отношении всех исследованных штаммов микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636 и *Candida albicans* NCTC 2625.

На втором этапе исследований *in vitro* исследовали активность широко используемых в хирургической и травматологической практике препаратов ЛИ, ЦИ и ЦФ в сочетании с ПФ в отношении вышеуказанных коллекционных штаммов. Следует отметить, что штамм *Candida albicans* был исключен из исследования, так как исследуемые препараты не являются противогрибковыми.

Было установлено, что минимальная подавляющая концентрация препарата (МПК) ЛИ в со-

четании с ПФ снижалась только в отношении грамположительных микроорганизмов – *S. aureus* и *B. Subtilis*, для *P. aeruginosa* и *E. coli* значение уровня МПК не изменилось, а для *P. vulgaris* МПК возросла при сочетанном применении ЛИ и ПФ в 2 раза. Следует отметить, что для *S. aureus* и *B. Subtilis* МБК ЛИ при его комбинации с ПФ снижалась в 4-8 раз.

Применение ЦИ в сочетании с ПФ не влияло на активность антибиотика в отношении *P. vulgaris*, *S. aureus*, *B. subtilis* – мы наблюдали значения МПК как и в случае применения только ЦИ. Но для *P. aeruginosa* мы зарегистрировали уменьшение уровня МПК в 2 раза, а для *E. coli* – в 32 раза (табл. 1). Для *P. vulgaris* и *B. subtilis* МБК ЦИ и сочетания ЦИ и ПФ не различались (табл. 2).

Одновременное внесение в питательную среду ЦИ и ПФ вызывало уменьшение МБК в отношении *P. aeruginosa* и *S. aureus* в 2 раза, а *E. coli* – в 8 раз. Статистически значимых отличий между сравниваемыми группами по МБК для большин-

ства штаммов не выявлено (табл. 2).

В наибольшей степени оказалось эффективным сочетанное применение ПФ и ЦФ, при котором МПК снижалась для всех культур микроорганизмов, использованных в эксперименте (табл. 1). Так, в отношении *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* и *S. aureus* это было восьмикратное снижение МПК, для *B. subtilis* – 16-кратное, а для *E. coli* МПК уменьшилась в 32 раза. Такой же эффект при сочетанном применении ПФ и ЦФ установлен при определении МБК (табл. 2). Для *P. aeruginosa* установлено 4-кратное уменьшение МБК, в отношении *P. vulgaris*, *S. aureus* и *B. subtilis* – 16-кратное, а для *E. coli* МБК уменьшилась в 64 раза.

Таким образом, в опытах *in vitro* установлено, что введение в питательную среду ПФ не оказывает антибактериального действия в отношении вышеперечисленных коллекционных штаммов микроорганизмов. Но при введении в питательную среду комбинаций ПФ и исследуемых антибиотиков наблюдается уменьшение МПК и МБК.

Таблица 1

Минимальная подавляющая концентрация
линкомицина, ципролета, цефотаксима и их комбинации с перфтораном

Микроорганизм	Л	Л+ПФ	ЦИ	ЦИ+ПФ	ЦФ	ЦФ+ПФ
Номер группы сравнения	1	2	3	4	5	6
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1:200	1:200	1:25600	1:51200 ³	1:200	1:1600 ⁵
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	1:25	1:50	1:12800	1:12800	1:3200	1:25600 ⁵
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1:400	1:6400 ¹	1:25600	1:25600	1:3200	1:51200 ⁵
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1:200	1:800 ¹	1:3200	1:3200	1:6400	1:51200 ⁵
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1:100	1:100	1:400	1:12800 ³	1:6400	1:204800 ⁵

Примечание: надстрочными индексами отмечены статистически значимые отличия между сравниваемыми группами.

Таблица 2

Минимальная бактерицидная концентрация
линкомицина, ципролета, цефотаксима и их комбинации с перфтораном

Микроорганизм	Л	Л+ПФ	ЦИ	ЦИ+ПФ	ЦФ	ЦФ+ПФ
Номер группы сравнения	1	2	3	4	5	6
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Отсутствует	Отсутствует	1:1600	1:3200	1:100	1:400 ⁵
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	Отсутствует	Отсутствует	1:6400	1:6400	1:1600	1:25600 ⁵
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1:100	1:800 ¹	1:25600	1:25600	1:3200	1:51200 ⁵
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1:50	1:200 ¹	1:800	1:1600	1:6400	1:25600 ⁵
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Отсутствует	Отсутствует	1:200	1:1600 ³	1:3200	1:204800 ⁵

Примечание: надстрочными индексами отмечены статистически значимые отличия между сравниваемыми группами.

Этот эффект наиболее выражен в комбинации ПФ и ЦФ, где отмечено максимальное снижение МПК (от 8 до 32 раз). Также в этом случае наблюдали 4-64-кратное снижение МБК в отношении всех изученных тест-штаммов микроорганизмов. Другие два препарата (ЦИ и ЛИ) в сочетании с ПФ демонстрировали снижение МПК и МБК только в 2-4 раза. По нашему мнению, синергетические возможности ПФ в сочетании с антибиотиками можно объяснить тем, что он способствует транспорту кислорода по градиенту его парциального давления из атмосферного воздуха в питательную среду, тем самым повышая в ней содержание кислорода. Очевидно при превышении некоего порогового значения парциального давления кислорода в питательной среде, факультативные анаэробы начинают использовать аэробный тип дыхания и вступают в фазу вегетации, оказываясь в этот момент более чувствительными к антибактериальным препаратам. Эта гипотеза подтверждается тем, что в эксперименте *in vitro* был установлен предел снижения МПК и МБК для всех исследуемых антибиотиков, а конкретное значение такого предела связано как с уменьшением концентрации самого антибактериального препарата, так и с уменьшением концентрации ПФ в питательной среде.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Воробьев С.И. Перфторуглеродные эмульсии I и II поколения // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – Т. 43, № 4. – С. 30-40. [Vorob'ev S.I. First- and second-generation perfluorocarbon emulsions. Pharmaceutical Chemistry Journal. 2009; 43(4): 209-218.]
2. Долотин Д.Н., Михайловский М.В., Суздалов В.А. Гнойные осложнения при использовании металлоимплантатов в хирургии позвоночника: обзор литературы // Хирургия позвоночника. – 2015. – Т. 12, № 2. – С. 33-39. – DOI: 10.14531/ss2015.2.33-39. [Dolotin D.N., Mikhailovsky M.V., Suzdalov V.A. Purulent complications in spine surgery with metal implants: literature review. Khirurgiya pozvonochnika. 2015; 12(2): 33-39 (in Russ.).]
3. Зюзя Е.В., Калуцкий П.В., Иванов А.В. Влияние сочетанного применения кровезаменителя перфторан и антибиотика цефотаксим на состояние иммунологических показателей периферической крови в условиях моделирования инфицированной раны и воздействия на организм постоянного магнитного поля // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2013 – № 1. – С. 80. [Zuzya E.V., Kaluckiy P.V., Ivanov A.V. Effect of combined using of perftoran and antibiotics cefotaksim on immunological parameters of peripheral blood in case of infected wounds on background constant magnetic field. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoye izdaniye. 2013; (1): 80 (in Russ.).]
4. Зюзя Е.В., Иванов А.В., Иванов Д.А., Волчкова Ю.С. Экспериментальное исследование заживления инфицированных ран кожи при местном введении перфторана и воздействии постоянного магнитного поля // Морфология. – 2016. – Т. 149, № 3. – С. 90-90а. [Ziuziya Ye.V., Ivanov A.V., Ivanov D.A., Volchikova Yu.S. Experimental study of the healing of infected skin wounds after local injections of perftoran and the exposure to a permanent magnetic field. Morfologiya. 2016; 149(3): 90-90a. (in Russ.).]
5. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция. – М.: Медицина, 1990. – 592 с. [Kuzin M.I., Kostyuchenok B.M. Wounds and wound infection. M.: Meditsina; 1990: 592 (in Russ.).]
6. Орлов А.А., Григорян А.С., Мариничева И.Г., Ипполитов В.П., Кармен Н.Б., Маевский Е.И. Влияние перфторана на заживление мягких и костных ран у крыс // Российский стоматологический журнал. – 2004. – № 3. – С. 6-10. [Orlov A.A., Grigoryan A.S., Marinicheva I.G., Ippolitov V.P., Karmen N.B., Maevsky E.I. Perftoran in healing of soft and osseous tissues in rats. Rossiyskiy stomatologicheskii zhurnal. 2004; (3): 6-10 (in Russ.).]
7. Размахнин Е.В., Шангин В.А., Кудрявцева О.Г., Охлопков Д.Ю. Возможности вакуум-инстилляционной терапии с использованием димексида и бетадина в лечении гнойных ран // Acta biomedica scientifica. – 2017. – Т. 2, № 6 (118). – С. 153-156. – DOI: 10.12737/article_5a0a8e0d03dc42.56682733. [Razmakhnin E.V., Shangin V.A., Kudryavtseva O.G., Okhlopkov D.Y. Possibilities of vacuum-instillation therapy with dimexidum and betadine in the treatment of purulent wounds. Acta biomedica scientifica. 2017; 2(6(118)): 153-156 (in Russ.).]
8. Хрупкин В.И., Мороз В.В., Писаренко Л.В., Хоменчук А.И. Использование эмульсии перфторуглеродов в местном лечении ран, осложненных хирургической инфекцией // Вестник хирургии. – 1997. – Т. 156, № 4. – С. 53-55. [Khrupkin V.I., Moroz V.V., Pisarenko L.V., Khomenchuk A.I. The use of perfluorocarbons emulsion in the local treatment of wounds complicated by surgical infection. Vestnik khirurgii. 1997; 156(4): 53-55. (in Russ.).]
9. Чадаев А.П., Климиашвили А.Д. Современные методики местного медикаментозного лечения инфицированных ран // Русский медицинский журнал. – 2002. – Т. 10, № 26 (170). – С. 1211-1213. [Chadayev A.P., Klimiashvili A.D. Modern methods of local drug treatment of infected wounds. Russkiy meditsinskiy zhurnal. 2002; 10(26(170)): 1211-1213 (in Russ.).]
10. Anagnostakos K., Mosser P. Bacteria identification on NPWT foams: clinical relevance or contamination? J Wound Care. – 2012. – Vol. 21, N 7. – P. 333-334, 336-339. – DOI: 10.12968/jowc.2012.21.7.333