

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Пермский государственный медицинский университет  
имени академика Е.А. Вагнера»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

ЕНЬЧЕВА ЮЛИЯ АБЫТАЛИНОВНА

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ  
ОЖОГОВ III СТЕПЕНИ**

14.01.17 – хирургия  
03.02.03 – микробиология

**ДИССЕРТАЦИЯ**  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители –  
доктор медицинских наук, профессор  
**Самарцев Владимир Аркадьевич**  
доктор медицинских наук,  
**Кузнецова Марина Валентиновна**

Пермь, 2017

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....</b>	<b>5</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>6</b>
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>13</b>
1.1. Современные методы хирургического лечения ожогов .....	13
1.1.1. Консервативная подготовка ран к аутодермопластике.....	13
1.1.2. Активная хирургическая тактика обработки гранулирующих ран .....	18
1.2. Распространенность и этиологическая структура возбудителей гнойно-воспалительных осложнений у больных с ожоговой травмой.....	22
1.2.1. Эпидемиология инфекций ожоговой раны .....	22
1.2.2. Характеристика основных возбудителей раневой ожоговой инфекции. ....	24
1.2.2.1. Характеристика бактерий рода <i>Staphylococcus</i> .....	26
1.2.2.2. Неферментирующие грамотрицательные бактерии.....	27
1.2.3. Особенности антибиотикорезистентности ведущих этиопатогенов ожоговой инфекции .....	30
1.2.4. Действие хлоргексидина и «Пронтосана®» на бактериальные биопленки (исследования <i>in vitro</i> ).....	32
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>35</b>
2.1. Клиническая часть .....	35
2.1.1. Определение площади ожога.....	37
2.1.2. Определение глубины ожога .....	38
2.1.3. Клинические критерии эффективности хирургического лечения.....	38
2.1.4. Общая характеристика пациентов.....	39
2.1.5. Традиционное хирургическое лечение пациентов с ожогами III степени .....	42
2.1.6. Лечение пациентов с использованием гидрохирургической системы и антисептика на основе полигексанида.....	43
2.2. Анализ медицинской документации .....	44

2.3. Экспериментальная часть.....	45
2.3.1. Бактериальные штаммы .....	45
2.3.2. Среды и условия культивирования .....	45
2.3.3. Молекулярно-генетические исследования.....	46
2.3.3.1. Определение детерминант антибиотикоустойчивости.....	46
2.3.3.2. Методы генетического типирования .....	47
2.3.4. Микроскопические методы оценки биопленок (атомно-силовая и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия) .....	47
2.3.5. Эксперименты по изучению влияния антисептиков на моновидовые и смешанные сессильные культуры <i>P. aeruginosa</i> и <i>S. aureus</i> .....	48
2.4. Статистические методы.....	49
<b>ГЛАВА 3. ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ С ОЖОГАМИ III СТЕПЕНИ.....</b>	<b>51</b>
3.1. Результаты традиционного хирургического лечения .....	51
3.2. Результаты лечения пациентов с ожогами III степени в группе с гидрохирургической обработкой гранулирующих ран и антисептика на основе полигексанида .....	58
3.3. Эффективность гидрохирургической обработки гранулирующих ожоговых ран с использованием в послеоперационном периоде раствора «Пронтосан®» .....	65
<b>ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ ИНФИЦИРОВАНИЯ ОЖОГОВЫХ РАН.....</b>	<b>75</b>
<b>ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ХЛОРГЕКСИДИНА И «ПРОНТОСАНА®» НА МОНОВИДОВЫЕ И СМЕШАННЫЕ БИОПЛЕНКИ, ОБРАЗОВАННЫЕ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> И <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> .....</b>	<b>85</b>
5.1. Изменение биомассы биопленки и жизнеспособности клеток клинических штаммов <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i> при воздействии хлоргексидина и «Пронтосана®».....	85
5.2. Морфометрические показатели, жизнеспособность клеток и массивность биопленок, образованных референтными штаммами <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i> , после воздействия антисептиков .....	91

<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>98</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>105</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....</b>	<b>107</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>108</b>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДП	–	Аутодермопластика
АСМ	–	Атомно-силовая микроскопия
ГХОГР	–	Гидрохирургическая обработка гранулирующих ран
ЖСА	–	Желточно-солевой агар
КЛСМ	–	Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия
КОЕ	–	Колониеобразующая единица
ПР	–	«Пронтосан <sup>®</sup> »
ТХЛ	–	Традиционное хирургическое лечение
ФБС	–	Фосфатно-буферная среда
ХГ	–	Хлоргексидин
ХимНЭ	–	Химическая некрэктомия
ЭХН	–	Этапная хирургическая некрэктомия
LB	–	Лурия-Бертани
MRSA	–	Метициллинрезистентный золотистый стафилококк

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Ожоговая травма представляет серьезную проблему в здравоохранении всего мира и является одной из основных причин заболеваемости с длительной госпитализацией (Лафи С.Г., 2014; Maan Z.N. et al., 2014; Wolf S.E. et al., 2016). Этому способствует прогрессирующая индустриализация стран, разработка новых источников энергии и широкое внедрение созданных на их основе устройств в повседневную бытовую жизнь (Змеева Е.В., 2011; Владимиров И.В., 2014; Wong E.G., 2014; Hautier A., 2014; Pompermaier L., 2016; Adil S.O., 2016).

Гибель кожных покровов сопровождается развитием раневой инфекции, потерей белков, электролитов, что требует скорейшего восстановления защитного барьера (Власов А.А., 2010; Сычевский М.В., 2010; Смирнов С.В. и соавт., 2013; Спиридонова Т.Г. и соавт., 2014). При ожогах III степени основная роль отводится активной хирургической тактике, которая заключается в удалении некроза и раннем пластическом закрытии дефекта. В повседневную практику активно внедряются аппаратные методы обработки и лечения ран различной этиологии: ультразвуковая кавитация, вакуумная терапия ран, аргоноплазменная коагуляция и гидрохирургия (Бобровников А.Э. и соавт., 2013; Аганина Е.Н. и соавт., 2013; Алексеев А.А., 2014; Воробьев А.А. и соавт., 2014). В настоящее время гидрохирургическая система успешно применяется в гнойной хирургии у взрослых (Брегадзе А.А. и соавт., 2014; Иванов А.П. и соавт., 2014), а также в лечении ожоговых ран у детей и взрослых (Duteille F. et al., 2012; Nyland E.J. et al., 2014; Delli S.G. et al., 2015).

Проблема внутрибольничного инфицирования приобретает особую значимость для больных с ожоговой травмой: считается, что до 75% всех смертельных случаев после термических ран вызвано инфекционными осложнениями (Питерская Ю.А., 2009; Лаврентьева А. и соавт., 2014; Gittings P.M. et al., 2016; Yun H.C. et al., 2016). Их возникновение обусловлено различными факторами: природой самого ожога, когда нарушается целостность

кожных и слизистых покровов; ослабленным иммунным статусом пациентов, связанным с изменениями жизненно важных функций организма и полиорганной недостаточностью; агрессивными диагностическими, терапевтическими процедурами и длительными сроками госпитализации (Sherren P.V. et al., 2014). Инфицирование раны у больных с термическими травмами происходит чаще всего условно патогенными микроорганизмами, которые обладают устойчивостью к различным группам антибиотиков (Крутиков М.Г., 2003; Oncul O., 2009; Воробьева О.Н., 2010; Гординская Н.А., 2012; Sayaka O. et al., 2014). Резистентность основных возбудителей ожоговой инфекции к наиболее часто применяемым антибактериальным препаратам может достигать 70-100% (Farshadzadeh Z., 2014). В ожоговых отделениях видовой спектр возбудителей инфекционных осложнений и их антибиотикочувствительность зависят от климатических и региональных особенностей, от антибактериальных препаратов, применяемых в отделениях (Oncul O., 2009).

Быстроменяющийся микробный спектр ожоговой раны создаёт проблемы с подбором наиболее эффективного антисептика. Литературные данные о результатах сравнительной оценки эффективности антисептиков при лечении дермальных ожогов неоднозначны, зачастую противоречивы и нуждаются в уточнении (Чмырёв И.В. и соавт., 2010; Алексеев А.А. и соавт., 2011; Piatkowski A. et al., 2011; Харитонов Ю.М. и соавт., 2014; Зиновьев Е.В. и соавт., 2014; Chung Y.K. et al., 2015; Touzel R.E. et al., 2015). Накапливаются сведения о цитотоксическом действии хлоргексидина биглюконата и его неэффективности при воспалительных процессах, ассоциированных с биопленками (Зверьков А.В. и соавт., 2013). Кроме того, антимикробная активность ряда традиционных антисептиков по отношению к госпитальным штаммам микроорганизмов в последние годы ставится под сомнение, что индуцирует появление комплексных препаратов (Гаврилова И.А. и соавт., 2011). Всё это требует дальнейшего углублённого изучения с использованием современных методов микробиологического анализа.

Таким образом, в настоящее время в комбустиологии есть современные средства и методы, но недостаточно отработаны критерии активной хирургической тактики с первичной пластикой. Необходим поиск оптимальных схем применения и ротации антисептиков при глубоких ожогах с учетом данных микробиологического скрининга.

**Цель исследования:** улучшение результатов комбинированного хирургического лечения у больных с глубокими ожогами III степени.

**Задачи исследования:**

1. Провести сравнительную оценку эффективности методов хирургического лечения глубоких ожогов с использованием традиционной аутодермопластики и современных гидрохирургических технологий с одномоментной аутодермопластикой.
2. Изучить особенности инфицирования и биологические характеристики основных этиопатогенов термических ран в специализированном стационаре.
3. Изучить действие двух антисептических препаратов: хлоргексидина биглюконата и «Пронтосана<sup>®</sup>» на биопленки, сформированные *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, в монокультуре и в ассоциации *in vitro*.
4. Определить показания к применению гидрохирургической обработки гранулирующих ожоговых ран при одномоментной аутодермопластике в сочетании с «Пронтосаном<sup>®</sup>» и разработать алгоритм соответствующего лечения.

**Научная новизна работы.** Проведено клинико-лабораторное изучение эффективности гидрохирургической обработки гранулирующих ожоговых ран в сочетании с использованием антисептика на основе полигексанида «Пронтосан<sup>®</sup>» с одномоментной кожной пластикой в сравнении с традиционной аутодермопластикой гранулирующих ран. Определены показания к гидрохирургической обработке гранулирующих ожоговых ран с одномоментной кожной пластикой. Усовершенствована методика гидрохирургического лечения обожженных участков кожи с глубокими повреждениями в зависимости от сроков термической травмы, площади ожога и бактериальной обсемененности. Доказана



эффективность методов комбинированного хирургического лечения с использованием гидрохирургической системы и антисептика «Пронтосан®» по сравнению с традиционным лечением.

Установлены особенности инфицирования термических ран с учетом антибиотикочувствительности и генотипической характеристики доминирующих возбудителей.

Впервые с применением атомно-силовой и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии изучены морфометрические показатели смешанной и моновидовых биопленок, образованных *P. aeruginosa* и *S. aureus*, при воздействии антисептиков «Пронтосана®» и 0,05% водного раствора хлоргексидина. Показано, что под действием биоцидов в моновидовых биопленках обоих видов бактерий фенотипические изменения клеток и структурные изменения клеточной поверхности были более выражены при воздействии «Пронтосана®». Установлено, что «Пронтосан®» полностью подавлял жизнеспособность бактерий, как в бинарной, так и в моновидовых биопленках, тогда как при экспозиции с хлоргексидином в них сохранялись жизнеспособные клетки *P. aeruginosa* и *S. aureus*.

**Практическая значимость.** Активная тактика хирургического лечения глубоких ожогов с применением гидрохирургических технологий обработки гранулирующих ран в сочетании с антисептиком на основе полигексанида с одномоментной кожной пластикой позволяет улучшить результаты лечения обожженных больных, сократить сроки лечения пострадавших с глубокими ожогами, уменьшить частоту местных осложнений в виде лизиса пересаженных аутодермотрансплантатов и генерализации инфекций. Усовершенствован метод гидрохирургической обработки гранулирующих ран при обширных ожогах III степени (рационализаторское предложение и №2697 от 19.04.2016), а также предложено использование повязок с ионами серебра для лечения ожогов III степени (рационализаторское предложение №2696 от 19.04.2016). Сформулирован алгоритм комбинированного хирургического лечения ожогов III степени (рационализаторское предложение №2709 от 29.10.2016). Получены данные,

характеризующие распространенность и особенности циркуляции штаммов *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* в ожоговом отделении.

Оценены выживаемость и морфометрическая реакция бактериальных клеток *S. aureus* и *P. aeruginosa* при воздействии хлоргексидина и «Пронтосана®» в моновидовых и смешанных биопленках. Предложен способ оценки антибактериального действия антисептика на полимикробные биопленки по изменению показателя массивности биопленок и жизнеспособности входящих в их состав бактерий (приоритетная справка на изобретение №2016122539 от 07.06.2016).

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Гидрохирургическая обработка гранулирующих ожоговых ран, в сочетании с одномоментной аутодермопластикой и использованием в послеоперационном периоде «Пронтосана®», является эффективным методом хирургического лечения глубоких ожогов на основании клинических и микробиологических критериев.
2. При обширных термических поражениях более 10% поверхности тела целесообразно поэтапно производить гидрохирургическую обработку гранулирующих ожоговых ран, в соответствии с площадью планируемой аутодермопластики.
3. Характерными особенностями инфекционных осложнений в ожоговой хирургии являются: доминирование представителей *S. aureus* и *P. aeruginosa* на протяжении длительного времени; возрастающая роль полирезистентных *Acinetobacter baumannii*; замедленная элиминация возбудителей из раны; развитие смешанной и суперинфекции.
4. Негативное влияние антисептиков, 0,05% раствора хлоргексидина биглюконата и «Пронтосана®» на sessильные формы бактерий *S. aureus* и *P. aeruginosa* в смешанном и моновидовых вариантах выражается в вариабельности морфологии клеток и потере их жизнеспособности, а также в дезорганизации поверхностных клеточных структур. Выявленные эффекты более выражены после экспозиции бактериальных биопленок с «Пронтосаном®».

**Внедрение результатов исследования.** Разработанные показания к гидрохирургической обработке гранулирующих ожоговых ран с последующей одномоментной аутодермопластикой внедрены в практику и используются в ожоговом отделении ГБУЗ ПК «Городская клиническая больница №21» г. Перми, а также в отделении гнойной хирургии ГБУЗ ПК «Городской клинической больницы №2 им. Ф.Х. Граля», включены в лекционный курс на кафедрах общей хирургии №1 и хирургии ФДПО ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Связь работы с научными программами.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на кафедре общей хирургии №1, на кафедре микробиологии и вирусологии с курсом клинической лабораторной диагностики. Номер государственной регистрации 115031920001.

**Апробация работы.** Материал и основные положения работы доложены и обсуждены в рамках 18-ой международной выставки «Медицина и здоровье» (Пермь, 2012), на краевой научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной хирургии» (Пермь, 2013), международной научно-практической конференции «Хирургическая обработка ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых» (Москва, 2014), научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины» в рамках 21-ой международной выставки «Медицина и здоровье» (Пермь, 2015), II Всероссийской школы-конференции молодых ученых «Современные проблемы микробиологии, иммунологии и биотехнологии» в рамках Пермского научного форума (Пермь, 2015), научной сессии молодых ученых «Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера», посвященной 100-летию высшего медицинского образования на Урале (Пермь, 2016), I Съезда хирургов Приволжского федерального округа (Н.-Новгород, 2016).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 6 – в журналах, включенных в список ВАК. Получены три удостоверения на рационализаторское предложение и приоритетная справка на изобретение (№ 2016122539 от 07.06.2016).

**Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.** При планировании, организации и проведении исследований по всем разделам работы доля личного участия автора составляла не менее 80%. Автору принадлежит формулирование проблемы, постановка цели, задач и дизайна исследования, анализ фактического материала и обобщение результатов, подготовка научных публикаций.

Ряд экспериментальных исследований был выполнен совместно с сотрудниками лаборатории алканотрофных микроорганизмов на базе Rhodococcus-центра Пермского Государственного научно-исследовательского университета. Автор благодарит за предоставленную возможность и содействие сотрудников и заведующую лабораторией алканотрофных микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН: академика РАН, д.б.н., профессора Ившину И.Б., к.б.н. Рубцову Е.В., а также заведующего кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом КЛД ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ д.м.н., профессора Горовица Э.С.

**Заключение этической комиссии.** Методы работы одобрены этическим комитетом ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ, протокол от 24.06.2015.

**Объем и структура работы.** Работа изложена на 135 страницах машинописного текста, содержит 16 рисунков и 32 таблицы, состоит из введения, обзора литературы, трех глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Список литературы включает 250 наименований работ, в том числе 128 отечественных и 122 зарубежных авторов.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современные методы хирургического лечения ожогов

На сегодняшний день лечение ожогов остается одним из трудоёмких и дорогостоящих процессов практической медицины и требует знаний и умений по многим разделам хирургии, реаниматологии, микробиологии и терапии (Atiyeh B.S. et al., 2009; Алексеев А.А. и соавт., 2015; Frieri M. et al., 2016).

Лечение термических поражений стало меняться во второй половине девятнадцатого века с развитием первых ожоговых центров и работами врачей-ученых, занимающихся улучшением клинических исходов с помощью научных исследований (Fagan S.P. et al., 2014). Современная тактика хирургического лечения при ожогах разработана во многом благодаря успехам в изучении патогенеза ожоговой болезни и её осложнений (Алексеев А.А. и соавт., 2015). Актуальные тенденции в комбустиологии направлены на раннюю активную хирургическую тактику. По данным исследователей из Китая, получены хорошие результаты при тангенциальном иссечении некротической ткани в сроки от 7 до 14 суток после получения травмы (Song G. et al., 2016). Данной тактики лечения придерживаются и российские специалисты (Уракова Д.С., 2010; Адмакин А.Л. и соавт., 2016; Богданов С.Б. и соавт., 2016). Так, в ожоговом центре Краснодара у 80% больных с острой ожоговой травмой восстановление кожных покровов осуществляется по схеме раннего оперативного лечения (Куринный Н.А. и соавт., 2008).

Лечение ожогов III степени требует проведения кожной пластики, которое включает в себя раннюю некрэктомию с последующей аутодермопластикой с целью скорейшего восстановления кожного покрова (Харитонов С.А. и соавт., 2006; Lavrentieva A., 2016). В воспалительный период главными задачами является борьба с раневой инфекцией и отторжением некротических тканей.

#### 1.1.1. Консервативная подготовка ран к аутодермопластике

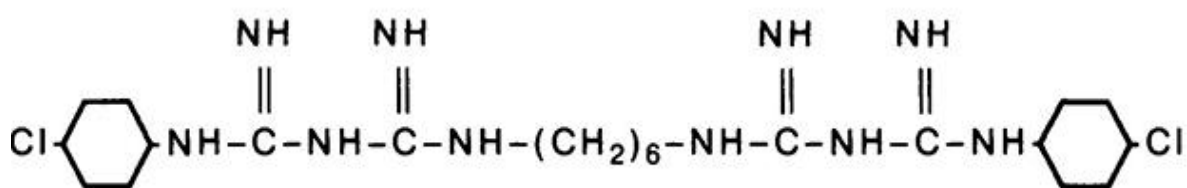
К консервативным методам относят местное лечение ожогов III степени, которое позволяет снизить микробную контаминацию раны и подготовить её к аутодермопластике (Логинов Л.П., 2012; Krezdorn N. et al., 2016; Akter F., 2016). В

разные фазы раневого процесса местное лечение преследует определенные цели и задачи. Приоритетная задача в воспалительный период – это борьба с раневой инфекцией. Применение местных антимикробных средств является основным методом профилактики бактериальной инфекции в ожоговой ране. Проводят частые (вплоть до ежедневных) перевязки с растворами йодсодержащих препаратов (йодопирон, йодовидон, повидон-йод и др.), хлоргексидина, диоксилина, фурацилина, повиаргола, лавасепта, плевасепта и т.п. Данные препараты могут использоваться в составе влажно-высыхающих повязок или при непосредственной обработке раневой поверхности. Кроме того, для борьбы с инфекцией используют мази на водорастворимой основе, такие как левомеколь, диоксиколь, сальвацин и т.п. (Müllera G. et al., 2013).

Одним из основных антисептиков, используемых для лечения раневой инфекции, является 0,05% водный раствор хлоргексидина биглюконата. Хлоргексидин в химическом отношении является дихлорсодержащим производным бигуанида (Рисунок 1А). Механизм действия хлоргексидина двойной: в низких (антисептических) концентрациях он способен изменять структуру фосфолипидной мембраны, вследствие чего нарушается ее целостность, возникает смещение осмотического равновесия и гибель клетки; в высоких концентрациях (как дезинфектант) хлоргексидин вызывает «затвердевание» цитоплазмы – осаждение белков и нуклеиновых кислот (Шайхутдинова А.Р., 2005).

Более современным средством для обработки ран является 0,1% полиаминопропил бигуанид/полигексанид. Структура полигексанида аналогична структуре хлоргексидина за исключением наличия двух фрагментов п-хлоранилина (Рисунок 1Б). Молекула полигексанида обладает относительно высокой молекулярной массой с большим количеством катионоактивных центров (Hübner N.O. et al., 2010).

А



Б

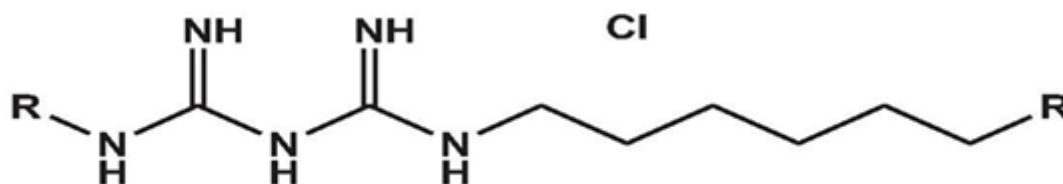


Рисунок 1. Химическая структура биоцидов: А – хлоргексидина; Б – полигексанида (Крамер А., 2014).

В настоящее время для ухода за раной доступны различные полигексанид-содержащие продукты, и они приобретают все большее значение по всему миру (Алексеев А.А. и соавт., 2006; Roth В. et al., 2010). Препарат «Лавасепт» («Fresenius», Германия) содержит, помимо бигуанида (полигексанида), макрогол 4000 (полиэтиленгликоль 4000), который уменьшает поверхностное натяжение тканей. В 2007 г. на основе полигексанида фирмой «В. Braun Medical» (Германия) разработан комбинированный препарат «Пронтосан®» (Kosa А., 2007). В его состав входит поверхностно-активное вещество 0,1% ундециленовый амидопропил-бетаин, что позволило не только повысить его антимикробную активность, но и придать ему дополнительные положительные свойства, в том числе очистительную способность и активность в отношении микробных биопленок (Seipp Н.М. et al., 2008; Andriessen А.Е. et al., 2008; Perez R. et al., 2010).

В многочисленных работах российских и зарубежных исследователей продемонстрирован выраженный антибактериальный эффект хлоргексидина в исследованиях *in vivo* (Алексеев А.А. и соавт., 2009; Чмырёв И.В. и соавт., 2010;

Piatkowski A. et al., 2011; Харитонов Ю.М. и соавт., 2014; Chung Y.K. et al., 2015; Touzel R.E. et al., 2015). Так, в исследовании, выполненном Алексеевым А.А. и соавт. (2009) на кафедре термических поражений, ран и раневой инфекции ФГУ «Института хирургии им. А.В. Вишневского Росмедтехнологий», показано, что широкое применение хлоргексидина вызывает развитие устойчивых к нему микроорганизмов. Группа китайских исследователей выявила, что ежедневное применение раствора хлоргексидина в отделении реанимации снижает внутрибольничное распространение карбапинемоустойчивых штаммов *A. baumannii* (Chung Y.K. et al., 2015).

Текущие тенденции в обработке ран определяют замену хлоргексидина на полигексанид. В литературе (Крылов К.М., и соавт., 2010; Блатун Л.А., 2011; Алексеев А.А. и соавт., 2011; Бобровников А.Э., 2012) представлены данные об эффективном использовании растворов и геля «Пронтосан<sup>®</sup>» при обработке ожоговых ран на перевязках, в аппликациях на пересаженные аутодермотрансплантаты и раны донорских участков, а также для ведения гнойно-некротических ран различной этиологии. Его применение позволяет предотвратить развитие инфекции или купировать уже развившийся инфекционный процесс.

Проведенные в Ожоговом центре Института хирургии им. А.В. Вишневского в 2010-11 гг. клинико-лабораторные исследования показали лучшую микробиологическую эффективность «Пронтосана<sup>®</sup>» по сравнению с «Лавасептом» (Алексеев А.А. и соавт., 2011). На фоне применения «Пронтосана<sup>®</sup>» отмечено увлажнение ран и очищение их от фибринозно-некротических наложений, устранение неприятного раневого запаха, купирование и профилактика развития инфекции, за счет чего создавались лучшие условия для заживления поверхностных ожогов, подготовки глубоких ран к пластическому закрытию и эпителизации пересаженных аутодермотрансплантатов и ран донорских участков. Побочных эффектов при использовании «Пронтосана<sup>®</sup>» выявлено не было. Положительные результаты лечения хронических ран «Пронтосаном<sup>®</sup>» получены в исследовании, где отмечена элиминация даже в случаях длительного



существования в ранах панантибиотикоустойчивых штаммов *P. aeruginosa* (Блатун Л.А., 2012). В работе Чмырёва И.В. и соавт. (2010) в сравнительном исследовании доказана высокая эффективность геля и раствора «Пронтосан®» у пострадавших с глубокими ожогами после поздней некрэктомии (Чмырёв И.В. и соавт., 2010). Клиническая эффективность «Пронтосана®» подтверждена в процессе местного лечения больных с осложненным течением одонтогенной гнойной инфекции (Харитонов Ю.М. и соавт., 2014).

В настоящее время наблюдается широкомасштабный прогресс в разработке и производстве перевязочных средств. Появились новые высокотехнологичные перевязочные материалы, применение которых способствует улучшению результатов лечения ран, язв и ожогов (Войновский Е.А. и соавт., 2015). Самыми востребованными в биомедицинских исследованиях являются препараты на основе наночастиц серебра (Bishara S., 2007; Афиногенова А.Г., 2008; Аганина Е.Н., 2013; Xianchao D. et al., 2013). Различные имплантируемые устройства, а также дезинфицирующие фильтры покрывают производными серебра, придавая высокую токсичность к большому количеству микроорганизмов. Повязки, пропитанные наночастицами серебра, показали высокую активность в отношении биопленок, образуемых *P. aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. (Качанова О.А. и соавт., 2014; Velázquez J. et al., 2015).

Многие российские и зарубежные исследователи обеспокоены проблемой формирования биопленок, которые представляют серьезную проблему в медицине. Биопленки – сообщества бактерий, которые прикрепляются к различным поверхностям. Основу биопленки составляет матрикс, в состав которого входят белки, нуклеиновые кислоты, внеклеточные полисахариды. Известно, что более 90% изученных видов бактерий способны формировать биопленки. При хронических заболеваниях 80% микроорганизмов, выделенных от пациентов, обладали биопленкообразующей активностью (Гостев В.В. и соавт., 2010). Формирование биопленок на раневой поверхности является серьезной медицинской и эпидемиологической проблемой, так как бактерии в биопленках

защищены от влияния антибактериальных агентов и антисептиков, что тормозит раневое заживление. Устойчивость бактерий, обитающих в биопленках, к лекарственным препаратам многократно повышена по сравнению с планктонно растущими клетками (Афиногенова А.Г. и соавт., 2011; Радциг М.А., 2013). Микроорганизмы, находящиеся в биопленке, уже через 6-12 часов становятся устойчивыми к антибиотикам, химиотерапевтическим препаратам, антисептикам в результате образования внеклеточных полисахаридов (Бехало В.А. и соавт., 2010; Bester E. et al., 2010). Поэтому в хирургии ожогов особое внимание уделяется препаратам, не только обладающим антибактериальными свойствами, но и способным эффективно разрушать и удалять биологические пленки с поверхности ран (Крылов К.М. и соавт., 2010). Учитывая, что в последнее время во всём мире наблюдается рост резистентности микроорганизмов, циркулирующих в ожоговых стационарах, актуальными являются исследования, которые посвящены поиску новых эффективных местных антимикробных средств (Бутко Я.А. и соавт., 2008; Бобровников А.Э. и соавт., 2011; Кубраков К.М. и соавт., 2012; Hebeish A., 2014).

### **1.1.2. Активная хирургическая тактика обработки гранулирующих ран**

Раннее иссечение девитализированных тканей у ожоговых больных является перспективным методом лечения данных пациентов. Свободной кожной пластикой предшествует подготовка к оперативному лечению в виде иссечения омертвевших тканей. Тактика может быть различной и отличаться большей или меньшей травматичностью и сроками проведения. В литературе выделяют два исторически сложившихся направления: 1) аутодермопластика на гранулирующие раны после этапных или химических некрэктомий (Тюрников Ю.И. и соавт., 2000); 2) ранняя хирургическая некрэктомия с последующей аутодермопластикой (Алексеев А.А., 1999; Nautier A. et al., 2014; Pauline D.H. et al., 2014). Ранние хирургические некрэктомии проводятся в сроки до 5 суток от момента получения ожоговой травмы, до развития в ране воспалительного процесса. Но не всегда пациенты поступают на лечение в специализированные стационары в первые сутки после ожога; кроме того, ранние эксцизии связаны с риском обильной

кровопотери и нерадикальности операции. Поэтому менее агрессивные способы лечения не потеряли своей актуальности, и многие хирурги в ожоговых стационарах придерживаются «сдержанной» тактики.

После этапных хирургических и химических некрэктомий ожоговые раны начинают заполняться грануляциями к 9-12 суткам (Парамонов Б.А. и соавт., 2000; Шехтер А.Б. и соавт., 2000). Грануляционная ткань (от лат. *granum* – зерно) является молодой соединительной тканью. Ее состав имеет многослойную структуру, где основная масса представлена коллагеновыми волокнами. Поверхностные слои включают сосудистые сплетения и мелкие капилляры. Также в состав грануляционной ткани входит большое количество клеточных элементов, таких как лимфоциты, эозинофилы, нейтрофилы, макрофаги (Худяков В.В. и соавт., 2003).

На основании внешнего вида грануляций оценивается их готовность к аутодермопластике. Кроме этого, учитываются данные бактериологического посева, а также цитологическая картина раневого отделяемого. Розовые, плотные, легко кровоточащие при прикосновении и незначительном количестве экссудата грануляции принято считать «хорошими» (Комарова Е.А., 2009; Юрова Ю.В., 2014). Однако, аутодермопластика на готовые грануляции, может сопровождаться частичным лизисом аутодермотрансплантатов. Причиной этого некоторые авторы считают проникновение микроорганизмов в глубокие слои грануляционной ткани (Комарова Е.А., 2009). Самопроизвольное отторжение нежизнеспособных тканей при консервативном лечении глубоких ожогов можно ожидать через 4-6 недель после травмы. Считается, что такие длительные сроки подготовки ожоговых ран к свободной пересадке кожи непозволительны. За это время состояние больных может ухудшиться за счет присоединения осложнений, и выполнение операций у многих из таких пациентов становится проблематичным.

Для деконтаминации глубоких слоёв грануляционной ткани был предложен метод хирургической обработки гранулирующих ожоговых ран (ХОГР) (Алексеев А.А. и соавт., 2000). Метод хирургического иссечения грануляций известен с двадцатых годов двадцатого века. В 1927 г. Напалков Н.И. применял

данную процедуру для лечения глубоких ожогов, но при этом отмечал отрицательные моменты данной процедуры, к которым относил значительную травматизацию и обильные кровотечения. Данная методика нашла последователей и в литературе последующих лет: многие авторы сообщали об эффективном применении хирургического удаления грануляционной ткани, лучше приживлении аутодермотрансплантатов в случаях, когда грануляции были изменены, т.е. гипертрофированы или наоборот атрофичны (Постников Б.Н., 1957; Мухин М.В., 1961; Колесников И.С., 1962; Петров В.И., 1964). Однако некоторые специалисты сходились во мнении, что хирургическое иссечение нужно проводить во всех случаях вне зависимости от состояния грануляционной ткани (Юхин Л.С., 1970; Artz С.Р., 1960; Schmidt М.А., 1962; Малютина Н.Б., 2002).

Таким образом, хирургическая обработка грануляционной ткани – это оперативная методика лечения ожогов, с целью их дальнейшей подготовки к свободной кожной пластике, связанная с удалением поверхностного слоя грануляций. Одни авторы называют такую методику оперативного лечения щадящей предтрансплантационной резекцией грануляционной ткани (Мензул В.А., 2002, 2014; Ковалев А.С. и соавт., 2014), другие – тангенциальным иссечением грануляционной ткани (Тюрников Ю.И., 2000). Показано несомненное преимущество хирургической обработки гранулирующих ран в сравнении с традиционной подготовкой к аутодермопалстике (Худяков В.В., 2005; Jeffery S.L.A., 2007). Так, по данным Худякова В.В. (2005), лизис аутодермотрансплантатов после хирургической обработки гранулирующих ран составил 19,5%. Однако тангенциальное иссечение послеожоговых поверхностей может привести к чрезмерной потере здоровых тканей (Адмакин А.Л. и соавт., 2016).

Технический прогресс в медицинской инструментальной и аппаратной индустрии обуславливает разработку технических решений и новых методик для ожоговой хирургии. Активно внедряются в повседневную практику аппаратные методы обработки и лечения ран различной этиологии: ультразвуковая кавитация,

гидрохирургия, вакуумная терапия ран, аргоноплазменная коагуляция (Аганина Е.Н. и соавт., 2013; Воробьев А.А. и соавт., 2014). Как альтернатива стандартной технике иссечения инфицированных тканей, последнее время заслуженно принят метод гидрохирургической обработки раны пульсирующей струей (Rennekampff H. et al., 2006; Barret J.P. 2006; Jeffery S.L.A., 2007). Использование струи жидкости в высоком скоростном режиме позволяет иссекать и удалять инфицированные и девитализированные ткани практически без травматизации жизнеспособных структур. При помощи одновременно работающего канала с отрицательным давлением, операционное поле своевременно очищается от инфицированного детрита (Ганичев Д.А. и соавт., 2014; Иванов А.П. и соавт., 2014). Гидрохирургическая система, используя мощную струю воды, может быть более точной и создает более гладкую поверхность для дальнейшей аутотрансплантации (Jeffery S.L.A., 2007). При гистологическом сравнении тканей после тангенциального иссечения и гидрохирургической обработки была выявлена значительная разница в количестве жизнеспособной ткани при втором методе (Hyland E. et al., 2015).

Гидрохирургическая система VERSAJET™ (Smith and Nephew, Лондон, Великобритания) (Рисунок 2).



Рисунок 2. Гидрохирургическая система VERSAJET™

Данная система предназначена для обработки раневых поверхностей, где в основу заложено использование водоструйных технологий. Во время работы с гидрохирургической системой происходит одновременное удаление и очищение раны за счёт того, что подключенная эвакуационная трубка всасывает в себя все девитализированные фрагменты тканей. Под действием струи жидкости верхние слои иссекаются вместе с микроорганизмами, внедренными в толщу раневой поверхности. Гидрохирургическая система VERSAJET™ позволяет хирургу выбрать оперативную технику, максимально отвечающую задачам хирургической обработки раны пациента, включая удаление инородных материалов, иссечение тканей, формирование краев раны и др.

Совместное использование гидрохирургической системы и современных перевязочных средств для лечения поверхностных ожогов было рассмотрено некоторыми авторами (Rennekampff H. et al., 2007). До сих пор остаются нерешенными проблемы сроков, объёмов и времени закрытия раневой поверхности.

## **1.2. Распространенность и этиологическая структура возбудителей гнойно-воспалительных осложнений у больных с ожоговой травмой**

### **1.2.1. Эпидемиология инфекций ожоговой раны**

Традиционно в Российской Федерации наибольшее количество инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, регистрируют в хирургических стационарах (Гординская Н.А. и соавт., 2012; Чернявский А.М. и соавт., 2016). Инфекционные осложнения значительно ухудшают и затрудняют лечение раневого процесса и существенно пролонгируют сроки эпителизации в хирургической практике (Федоров В.Д. и соавт., 2012; Zhou Z. et al., 2015; Bousema S., 2016). Источником микробной контаминации могут служить катетеры и другие, внедренные в организм медицинские устройства, но чаще всего первичным очагом является рана, в том числе ожоговая (Бережанский Б.В. и соавт., 2006; Гординская Н.А. и соавт., 2012; Agarwal A. et al., 2010). При ожоговой

травме нарушается целостность кожных покровов, слизистых оболочек и происходит обсеменение ожоговой поверхности микробиотой воздуха, резидентной микрофлорой сотрудников стационара или микроорганизмами с поверхности близлежащих тканей самого пациента (Alharbi S.A., 2014; Tissot F., 2016). Отделяемое ожоговой раны является идеальной средой для роста и размножения микроорганизмов, попавших в нее, которые поддерживают инфекционный процесс, препятствующий заживлению (Pruitt V.A. et al., 1992; Bahemia I.A. et al., 2015).

Исторически выделяют два источника контаминации раны: экзогенный и эндогенный. Внешними источниками являются медицинский персонал, контаминированные руки, ротоглотка, кожные покровы и одежда (Шалимов А.А. и соавт., 2001). Согласно литературным данным в 1-3 сутки преобладает грамположительная микрофлора (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*), которая в последующем сменяется грамотрицательной (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*) (Petriuk V.V. et al., 2015). Авторы объясняют подобные изменения контаминацией ран госпитальной микробиотой. Внутрибольничное инфицирование является причиной того, что в первые две недели в ране возрастает количество микробных ассоциаций (Кирик О.В. и соавт., 1999).

В работе Phillips L.G. и соавт. (1989) делается вывод о том, что необожженная кожа является источником эндогенного инфицирования ожоговых больных. По данным этих авторов в десяти из одиннадцати случаев сепсиса, он был вызван теми же микроорганизмами, которые были найдены на коже пациентов во время их поступления. В классической работе Александер Дж. и Гуд Р. установлен критический уровень количества микроорганизмов на 1 грамм ткани, равный  $10^5$ - $10^6$  микробных клеток (Александер Дж., Гуд Р., 1974). По результатам исследований некоторых авторов, источником первичной контаминации ожоговых ран является желудочно-кишечный тракт (Van Der Waaij D. et al., 1990; Manson W.L. et al., 1994). Li N. с соавт. (1986) в эксперименте на обожженных крысах показали, что микроорганизмы из желудочно-кишечного

тракта попадают в кровоток задолго до инфицирования раны (феномен транслокации).

Morrison A.J. с соавт. (1984) выявили, что вероятность заражения *P. aeruginosa* в большей мере связана с ее персистенцией в окружающей среде и резидентным носительством персонала (Morrison A.J. et al., 1986). В то же время типирование штаммов синегнойной палочки, выделяемых от пациентов, и из больничной среды показало равную степень важности всех источников инфицирования: аутофлора, перекрестная инфекция от других больных, персонала, госпитальной среды (Yamul V.L. et al., 1981; Klein D.G. et al., 1995). Преобладание того или иного пути заражения зависит от типа ожога, выраженности иммуносупрессии, времени пребывания в стационаре, техники диагностических и лечебных процедур (Wurtz R. et al., 1995).

### **1.2.2. Характеристика основных возбудителей раневой ожоговой инфекции**

Структура раневой микробиоты, выделенной от больных в отделениях термической травмы, отличается большим разнообразием (Agnihotri N. et al., 2004; Гординская Н.А. и соавт., 2012). Инфицирование раны у больных с термическими травмами происходит чаще всего условно патогенными микроорганизмами (Воробьева О.Н. и соавт., 2010; Гординская Н.А. и соавт., 2012; Oncul O. et al., 2009). Необходимо также отметить, что микроорганизмы в инфицированных ожоговых ранах представлены, как правило, смешанными бактериальными ассоциациями (Воробьева О.Н. и соавт., 2010). Развитие микст-инфекции обусловлено синергическими связями и антагонистической активностью микроорганизмов, входящих в сообщество (Бухарин О.В. и соавт., 2007).

Бактерии *S. aureus* и *P. aeruginosa* являются одними из наиболее частых возбудителей раневой ожоговой инфекции. Главенствующая роль представителей данных видов в этиологии инфекционных осложнений термических ран показана многими российскими исследователями (Воробьева О.Н. и соавт., 2010; Ярец Ю.И., и соавт., 2011; Кубраков К.М. и соавт., 2012), в том числе по результатам 30-летних наблюдений в ожоговом центре Института хирургии им.



А.В. Вишневого РАМН (Крутиков М.Г., 2003), а также исследований, проведенных в Ожоговом центре Института травматологии и ортопедии г. Нижнего Новгорода за 2008-11 гг. (Гординская Н.А. и соавт., 2012). Аналогичные данные представлены в Национальном исследовании нозокомиальных инфекций Центра контроля за заболеваниями США (National Nosocomial Infections Study of the Center for Disease Control) за 1974-78 и 1980-98 гг.: совокупная доля двух видов устойчиво сохранялась на уровне более 40% (Mayhall C.G., 2003).

Российскими и зарубежными авторами показано, что доля бактерий рода *Staphylococcus* достигала 44 и 44,6%, среди всех возбудителей раневой ожоговой инфекции (Гординская Н.А. и соавт., 2012; Bahemia I.A. et al., 2015). В других исследованиях доля *S. aureus* составляла 17,9% (Agnihotri N. et al., 2004).

В исследовании, выполненном в госпитале на юго-западе Нигерии, ведущими возбудителями ожоговой инфекции оказались *P. aeruginosa* и *Proteus mirabilis*, доля которых составляла 53,6 и 10,7%, соответственно (Fadeyibi I.O. et al., 2013). Большинство выделенных штаммов микроорганизмов были устойчивы к бета-лактамам антибиотикам.

Ретроспективный анализ отделяемого из ожоговых ран, проведенный за двенадцатилетний период в ожоговом центре Шанхая, показал, что чаще других патогенов (получено 3615 микробных изолятов) встречались *Staphylococcus* spp. – в 38,2%, затем *A. baumannii* (16,2%), *Streptococcus viridans* (11,4%), *P. aeruginosa* (10,4%), коагулазонегативные стафилококки составили 9,2%. Интересно, что соотношение видов *S. aureus* и *A. baumannii* достоверно увеличивалось с 1-й по 8-ю неделю госпитализации (Yang F. et al., 2012). Группой учёных из США штата Луизиана был проведен ретроспективный анализ видового состава микроорганизмов, выделенных от пациентов с ожогами, находившихся в отделении интенсивной терапии (n=774). Ведущими возбудителями инфекционных осложнений у ожоговых больных оказались *P. aeruginosa* (26,2%), *S. aureus* (11,5%), *Candida albicans* (7,0%) (Fournier A. et al., 2016).

Значимое место в структуре возбудителей инфекции ожоговых больных занимают неферментирующие грамотрицательные бактерии. В исследовании, выполненном на базе отделения реанимации и интенсивной терапии ожогового центра, расположенного в научно-исследовательском институте скорой помощи (НИИ СП) им. И.И. Джанелидзе, за период 28 месяцев, доля *P. aeruginosa* и *A. baumannii* составила по 18% (Сатосова Н.В., 2012).

В исследовании, проведенном в детском ожоговом отделении г. Екатеринбурга, показано, что представители рода *Acinetobacter* стали причиной гнойных осложнений ран в 23% случаев (Алексеева Е.И. и соавт., 2007). Возросшую роль ацинетобактеров в этиологической структуре хирургических гнойно-воспалительных заболеваний отмечает Иманбаева М.И. (2000): по частоте встречаемости *A. baumannii* занимал третье место (9,1%) и уступал только золотистому стафилококку и синегнойной палочке (Иманбаева М.И., 2000).

#### **1.2.2.1. Характеристика бактерий рода *Staphylococcus***

Бактерии рода *Staphylococcus* представляют собой неподвижные аэробные или факультативно анаэробные кокки, относящиеся к семейству *Micrococcaceae*. Они часто обнаруживаются на катетерах и других внедренных в организм медицинских устройствах, а также при раневой, в том числе ожоговой, инфекции (Бережанский Б.В., Жевнерев А.А., 2006; Гординская Н.А., Сабирова Е.В., Абрамова Н.В. и др. 2012; Agarwal A., Singh K.P., Jain A., 2010). По данным отечественных и зарубежных авторов, доля *S. aureus*, выделенных из ран от пациентов ожоговых стационаров, составляет от 11,15% (Mehta M. et al., 2007) до 34,8% (Гординская Н.А. и соавт., 2012).

К факторам вирулентности стафилококков относятся: способность микроорганизма к адгезии, истинный лейкоцидин, ферменты для проникновения и распространения в организме, комплекс секретируемых эндотоксинов, мембраноповреждающие токсины – альфа, бета и гамма, эксфолиативные токсины А и В. *S. aureus* обладает существенно более широким набором факторов вирулентности (Watkins R.R. et al., 2012). На сегодняшний день у *S. aureus*

описано 16 различных адгезинов, 8 экзоэнзимов, 4 гемолизина, 20 энтеротоксинов, а также эксфолиативные токсины, экзотоксины, лейкоцидины (Гостев В.В. и соавт., 2013).

Считается, что до 80% клинических изолятов *S. aureus* могут образовывать биопленки (Taj Y. et al., 2012; Байдамшина Д.Р., 2014; Чеботарь И.В., 2014). Формирование биопленки начинается с прикрепления клеток бактерий к абиотической поверхности или связывания с белковыми факторами макроорганизма, такими как фибрин и коллаген (присутствуют в ране), фибриноген и фибронектин (Clarke S.R., Foster S.J., 2006). Рецепторы, опосредующие у стафилококков связывание с этими факторами, были названы MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules – микробные поверхностные компоненты, распознающие адгезивные молекулы матрикса). Важнейшим элементом в процессе адгезии стафилококков является PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesin) – полисахарид, который участвует как в клеточной субстратной адгезии, так и в последующем формировании клеточных кластеров (клеточно-клеточная адгезия) (Vergara-Irigaray M., 2008; Vu B., 2009). Еще одним изученным компонентом адгезии стафилококков является кодируемый геном *hla*  $\alpha$ -токсин, основной функцией которого является образование поровых каналов в мембранах клеток эукариот. Микробные клетки с нарушенным синтезом  $\alpha$ -токсина и/или PIA не способны формировать полноценные биопленки (Gotz F., 2002; Yao Y., 2005).

#### **1.2.2.2. Неферментирующие грамотрицательные бактерии**

В последние годы среди возбудителей инфекций, вызывающих осложнения у пациентов ожоговых отделений, все более устойчивые позиции занимают грамотрицательные неферментирующие бактерии. Отмечается постоянный рост частоты инфекций, вызванных псевдомонадами и ацинетобактерами.

Начиная с 70-х гг. XX века, *P. aeruginosa* – один из доминирующих возбудителей внутрибольничных инфекций в мире (Гаврилова И.А., 2011).

*P. aeruginosa* – грамотрицательная палочка с закругленными концами от 0,5 до 1 мкм, хемоорганогетеротроф, аэроб, факультативный анаэроб (денитрификатор).

Способность *P. aeruginosa* вызывать различные инфекционные процессы, связана с большим разнообразием факторов вирулентности (Руднов В.А., 2005; Bertrand X., 2012). Часть из них ассоциирована с клеточной стенкой (жгутики, пили, «непилевые» адгезины, полисахарид, альгинат), другие являются экстрацеллюлярными продуктами (экзотоксин А, гемолизины, протеазы, пиоцианин, пиовердин и др.) (Filloux A., 2011). *P. aeruginosa* выделяет во внешнюю среду ряд ферментов, в том числе щелочную протеазу, эластазу, фосфолипазу, цитотоксин, экзотоксин А. Эти ферменты разрушают ткани макроорганизма и создают условия, способствующие дальнейшему размножению бактерий и их внедрению в ткани. Экзотоксин А обладает НАД-дифтаמיד-АДФ-рибозил-трансферазной активностью и принадлежит семейству секретируемых бактериальных токсинов, ковалентно модифицирующих специфические белки внутри эукариотических клеток. В это семейство также входят экзотоксины *Corynebacterium diphtheriae* (дифтерийный токсин), *Vibrio cholerae* (холерный токсин), *Escherichia coli* (термолабильный токсин), *Shigella dysenteriae* (шига токсин) и *Bacillus anthracis* (токсины сибирской язвы) (Исаков М.А., 2010). Действие некоторых токсинов проявляется только при непосредственном взаимодействии с эукариотическими клетками, например, эффекторов III типа системы секреции (TTSS), являющейся контакт-зависимой системой у представителей рода *Pseudomonas* (Yahr T.L. et al., 1995). Она позволяет осуществлять прямое перемещение бактериальных белков в цитоплазму эукариотических клеток (Vallis A.J. et al., 1999). Синегнойная палочка использует TTSS для транслокации четырех эффекторных белков – *exoT*, *exoS*, *exoU*, и *exoY* (Frank D.W., 1997; Filloux A., 2011). Исследование, проведенное Jabalameli F. и соавт. (2012), связанное с изучением штаммов *P. aeruginosa*, полученных от ожоговых больных, выявило следующие их особенности. Все изоляты несли ген *exoT*, 95% – ген *exoY*, 64,5% – ген *exoU* и 29% – ген *exoS*. В большинстве изолятов

(58%) определялись как *exoY*, так и *exoU* гены, а 24% культур показали одновременное наличие *exoS* и *exoY* генов, и 1% содержал *exoS* и *exoU*. Совместное присутствие *exoS*, *exoY* и *exoU* было отмечено у 4% изолятов. Формирование биопленок было характерно для 96% штаммов, среди которых 47% обладали выраженной биопленкообразующей активностью, 26% – умеренной и 22,9% – слабой. Результаты этого исследования показывают, что гены, в частности, ген *exoU*, кодирующий секрецию токсинов III типа, распространен среди штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от ожоговых больных (Jabalamei F. et al., 2012).

У синегнойной палочки важную роль в клеточной агрегации и адгезии играют жгутики и фимбрии IV типа. Передвижение, обусловленное жгутиками, способствует образованию клеточного монослоя на субстрате, а фимбрии IV типа участвуют в клеточной агрегации за счет лектинового взаимодействия (Blango M.G., 2010). Образование биопленок у *P. aeruginosa* активируют *crc*-гены, ответственные за биосинтез фимбрий (Luja'n A.M. et al., 2007; Moons P. et al., 2009). Применение лазерной конфокальной и сканирующей электронной микроскопии позволило установить, что биопленки имеют сложную трехмерную структурную организацию (Гостев В.В. и соавт., 2010). Так в исследовании, выполненном на базе ожогового центра в городе Рио де Жанейро (Бразилия), 64% изолятов *P. aeruginosa* обладали биопленкообразующей активностью (Silva K.A. et al., 2016). Yang L. и соавт. (2011) показали, что дикий тип *P. aeruginosa* PAO1 облегчает формирование микроколоний *S. aureus* при совместном культивировании и защищает *S. aureus* от фагоцитоза *Dictyostelium discoideum* в биопленке (Yang L. et al., 2011).

Если в начале 2000-х гг. ацинетобактер был причиной от 1 до 3% случаев распространения госпитальных инфекций (Russo T.A. et al., 2010), то в 2012 г. доля воспалительно-инфекционных осложнений, вызванных *Acinetobacter* spp., составила 3,4% (Богомолва Н.С. и соавт., 2014). Клинически наиболее значимым видом рода *Acinetobacter* является *A. baumannii* (Горбич Ю.Л. и соавт., 2012; Дмитриева Н.В. и соавт., 2012; Чеботарь И.В. и соавт., 2014), который является

причиной возникновения 2-10% всех инфекций, обусловленных грамотрицательной микробиотой, в Европе и США (Fournier P.E. et al., 2006) и до 1% всех нозокомиальных инфекций (Marioni G. et al., 2010).

Представители *Acinetobacter* spp. – грамотрицательные бактерии рода *Acinetobacter*, семейства *Moraxellaceae*, строго аэробные. Клетки короткие и округлые, размеры составляют 1,0-1,5 × 1,5-2,5 мкм. В стационарной фазе роста они приобретают преимущественно форму кокков, располагающихся парами или в виде коротких цепочек. Основными особенностями ацинетобактеров являются резистентность ко многим группам антибактериальных химиопрепаратов; способность к формированию биопленок (как на тканях живого организма, так и на полимерных материалах, используемых в медицине); наличие сигнальной системы «кворум-сенсинг», что позволяет усиливать защиту бактерий от антибиотиков, дезинфектантов, иммунной системы человека. Бактерии рода *Acinetobacter* обладают плазмокоагулязной, дермонекротической, гиалуронидазной, антилизотимной активностями. Сравнительный анализ частоты встречаемости различных факторов патогенности у клинических штаммов, выделенных из гнойного отделяемого и воздуха больничной среды, выявил более высокую степень патогенности штаммов от пациентов (Иманбаева М.И., 2000). Кроме того, они способны формировать биопленки, что является важным фактором выживания в макроорганизме (Howard A. et al., 2012). Так, в исследовании, выполненном в Барселоне (Испания), показано, что более 60% штаммов обладали биопленкообразующими свойствами (Rodriguez-Bano J. et al., 2008). Адгезивные компоненты представлены пилиями (Tomaras A.P. et al., 2003). Основным элементом матрикса является полисахарид поли-β-(1-6)-N-ацетилглюкозамин, или PNAG (аббревиатура от англ. poly-β-(1-6)-N-acetylglucosamine) (Choi A.H. et al., 2009).

### **1.2.3. Особенности антибиотикорезистентности ведущих этиопатогенов ожоговой инфекции**

Инфицирование раны у больных с термическими травмами происходит чаще всего условно патогенными микроорганизмами, которые обладают

устойчивостью к различным группам антибиотиков (Воробьева О.Н., 2010; Гординская Н.А., 2012; Oncul O., 2009).

Наиболее часто внутрибольничные инфекции связаны с метициллинрезистентным золотистым стафилококком (MRSA), который устойчив к большой группе бета-лактамовых антибиотиков (пенициллины, цефалоспорины). Ожоговые больные подвержены большому риску локальных и системных инфекций, вызванных данным микроорганизмом. Так в исследовании, выполненном группой итальянских микробиологов, доля MRSA от пациентов ожогового отделения составила 88,6% (Montazeri E.A. et al., 2015). Сходные данные получены в исследовании, проведенном на базе Гомельского областного центра термической травмы, где удельный вес MRSA составлял 70% (Ярец Ю.И. и соавт., 2011).

Во всем мире растет доля грамотрицательных микроорганизмов с множественной антибиотикорезистентностью (Иванов Д.В. и соавт., 2005; Розанова С.М. и соавт., 2005; Bush K., Jacoby G.A., 2010; Sievert D.M. et al., 2013). Встречаются штаммы, устойчивые ко всем применяемым антибактериальным препаратам, появление которых связано с необоснованным и неограниченным их использованием (Дмитриева Н.В. и соавт., 2012). В значительном проценте случаев культуры *P. aeruginosa* оказались полирезистентными к действию всех антибиотиков взятого спектра, т.е. характеризовались панрезистентностью (Николаева Н.В., 2011; Jabalameli F. et al., 2012). Обращает на себя внимание то, что большой процент штаммов синегнойной палочки проявляет устойчивость к имипенему и меропенему. По данным многоцентрового клинического исследования в России, выполненного в девяностые годы двадцатого столетия, 92% изолятов *P. aeruginosa* от больных с тяжелыми инфекциями в ОРИТ были чувствительны к карбапенемам, в частности, меропенему (Яковлев В.В., 1998). Исследования, проведенные Гординской Н.А. и соавт. в Ожоговом центре Института травматологии и ортопедии с 2008 по 2011 гг. (Н.-Новгород), показали, что у 40,8% псевдомонад выявлена экспрессия металло-бета-лактамаз VIM-2

типа, и все эти штаммы принадлежали к одной клональной линии ST235 (Гординская Н.А. и соавт., 2012).

По данным Jabalameli F. и соавт. (2012), практически все штаммы *P. aeruginosa*, изолированные от ожоговых больных, были устойчивы к цефиксиму и цефтриаксону. Более 90% изолятов были устойчивы к амикацину, карбенициллину, цефотаксиму, цефепиму, гатифлоксацину, гентамицину, пиперациллину/тазобактаму, тикарциллину и тобрамицину (Jabalameli F. et al., 2012).

В настоящее время в зарубежной и отечественной литературе всё чаще обсуждается проблема инфекций, вызываемых *A. baumannii*. Она становится с каждым годом всё актуальнее, т.к. наблюдается рост устойчивости данных микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Wisplinghoff H. et al., 2006; Горбич Ю.Л. и соавт., 2012). Резистентность возбудителя к цефтазидиму и ампициллину/сульбактаму за 5 лет увеличилась в 2-2,5 раза, к амикацину и ципрофлоксацину – в 8-9 раз (Ортенберг Э.А. и соавт., 2005). В 3-х летнем исследовании, выполненном на базе ожогового научного центра в Китае (г. Пекин), были проанализированы антибиотикограммы изолятов *A. baumannii* из крови ожоговых больных. Частота устойчивости культур к имипенему и меропенему составила 94 и 91%, соответственно (Chung Y.K. et al., 2015).

В Швеции в г. Линкопинг с 1994 по 2012 гг. в рамках программы по борьбе с устойчивостью к антибиотикам было проведено исследование штаммов, полученных от пациентов, госпитализированных в ожоговый центр университетского госпиталя. Распространенность MRSA составила 1,7%, а карбапенемоустойчивые *P. aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. встречались в 26% и 3% случаев, соответственно (Franséna J. et al., 2016).

#### **1.2.4. Действие хлоргексидина и «Пронтосана®» на бактериальные биопленки (исследования *in vitro*)**

Формирование биопленок на раневой поверхности является серьезной медицинской проблемой, так как бактерии в биопленках защищены от влияния антибактериальных и антисептических препаратов, что тормозит заживление



раны (Bjarnsholt T. et al., 2008; Lewis K., 2008; Бехало В.А. и соавт., 2010; Bester E. et al., 2010). Известно, что свойства бактерий в биопленках отличаются от таковых у изолированных клеток, что сказывается на всех аспектах взаимодействия микро- и макроорганизма. Анализ влияния различных антибактериальных веществ, в том числе антисептических препаратов на биопленки *in vitro*, важно с точки зрения изучения механизмов устойчивости и имеет большое практическое значение.

В работе Smith K. и Hunter I.S. (2008) показано, что до 11% бактерий *S. aureus* (на дисках из нержавеющей стали) и до 80% клеток *P. aeruginosa* (на тефлоновых и полиэтиленовых дисках) оставались в биопленках жизнеспособными после воздействия раствора хлоргексидина, который использовали в концентрации дезинфицирующего средства. Vonez P.C. и соавт. (2013), протестировав активность хлоргексидина в отношении планктонных и сессильных клеток различных видов бактерий, также констатировали меньшую эффективность воздействия антисептика на биопленочный фенотип *P. aeruginosa* и *S. aureus* (наряду с *E. coli* и *A. baumannii*). Выявленная устойчивость клеток к антисептикам может быть связана с фильтрующей способностью матрикса, заполняющего межклеточное пространство и затрудняющего доставку средства во внутренние слои биопленки. У *P. aeruginosa* механизмы устойчивости могут быть опосредованы также изменением структуры липополисахаридного слоя, что ограничивает внедрение биоцидов, или активным выведением антибиотика (эффлюксом), осуществляемым за счет гиперэкспрессии мембранной MexCD-OprJ помпы (Chiang W.C. et al., 2012; Barah F., 2013).

В работе Тец В.В. и соавт. (2008) представлены результаты изучения действия антисептиков и ДНКазы на бактериальные биопленки стрептококков. Показано, что использованные антисептики и нуклеаза вызывают уменьшение биомассы биопленок и числа жизнеспособных клеток в их составе. Выявлен эффект усиления ДНКазой действия антисептиков на бактерии в биопленках, образованных моно- и смешанной культурами (Тец В.В. и соавт., 2008).

В работе Гавриловой И.А. и соавт. (2013) с помощью атомно-силовой микроскопии оценивали изменения бактериальных клеток под воздействием суббиоцидных концентраций дезинфектанта из группы гуанидинов. Авторам удалось показать, что под влиянием суббиоцидных доз полигуанидина происходит «излитие» клеточного содержимого, меняются морфологические параметры бактерий (Гаврилова И.А. и соавт., 2013).

Новые данные, полученные за последние годы, способствовали созданию комбинированных лечебных средств, действие которых связано не только с бактерицидным эффектом на микроорганизмы, но и с разрушением их биопленочной структуры. Осмысление процессов бактериальной адгезии и биопленкообразования, понимание роли биопленок в развитии хронических инфекций, том числе и в раневой хирургии, заставляет пересмотреть принципы терапии инфекционных заболеваний и стимулирует разработку средств и методов, влияющих на формирование либо разрушение бактериальных биопленок (Jakobsen T.H. et al., 2011; Лямин А.В. и соавт., 2012).

Таким образом, несмотря на несомненные успехи, достигнутые в местном лечении ожоговых ран, сохраняется необходимость в постоянном микробиологическом мониторинге, усовершенствовании и разработке новых хирургических методов и лекарственных средств для лечения ожогов (Бобровников А.Э. и соавт., 2013; Алексеев А.А., 2014). Настоящая работа посвящена определению эффективности комплексного использования современных хирургических технологий и антисептиков для лечения пациентов с глубокими ожогами III степени.

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Клиническая часть работы выполнена на кафедре общей хирургии №1 ФГБОУ ВО «Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава РФ, на базе ожогового отделения Пермской городской клинической больницы №21. Экспериментальная часть работы выполнена на кафедре микробиологии и вирусологии с курсом КЛД ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ и в лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии ИЭГМ УрО РАН (Рисунок 3).

### **2.1. Клиническая часть**

Всего обследовано 139 человек с глубокими ожогами III степени (МКБ–10 T29,3). Пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от методов хирургического лечения и подготовки ожоговых ран к аутодермопластике.

#### **Критерии включения в исследование:**

Для клинического исследования пациенты отбирались по следующим критериям: возраст от 18 и более лет с площадью ожогов III степени, не превышающей 20% поверхности тела (п.т.). Полное восстановление кожных покровов.

#### **Критерии исключения:**

Возраст больных моложе 18 лет, площадь ожогов III степени более 20% п.т. Летальные исходы.

Пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от вида хирургической тактики. Ожоговая болезнь в нашем исследовании не определяла хирургическую тактику в обеих группах, лечение ее проводилось в зависимости от стадии согласно современным стандартам и клиническим рекомендациям.

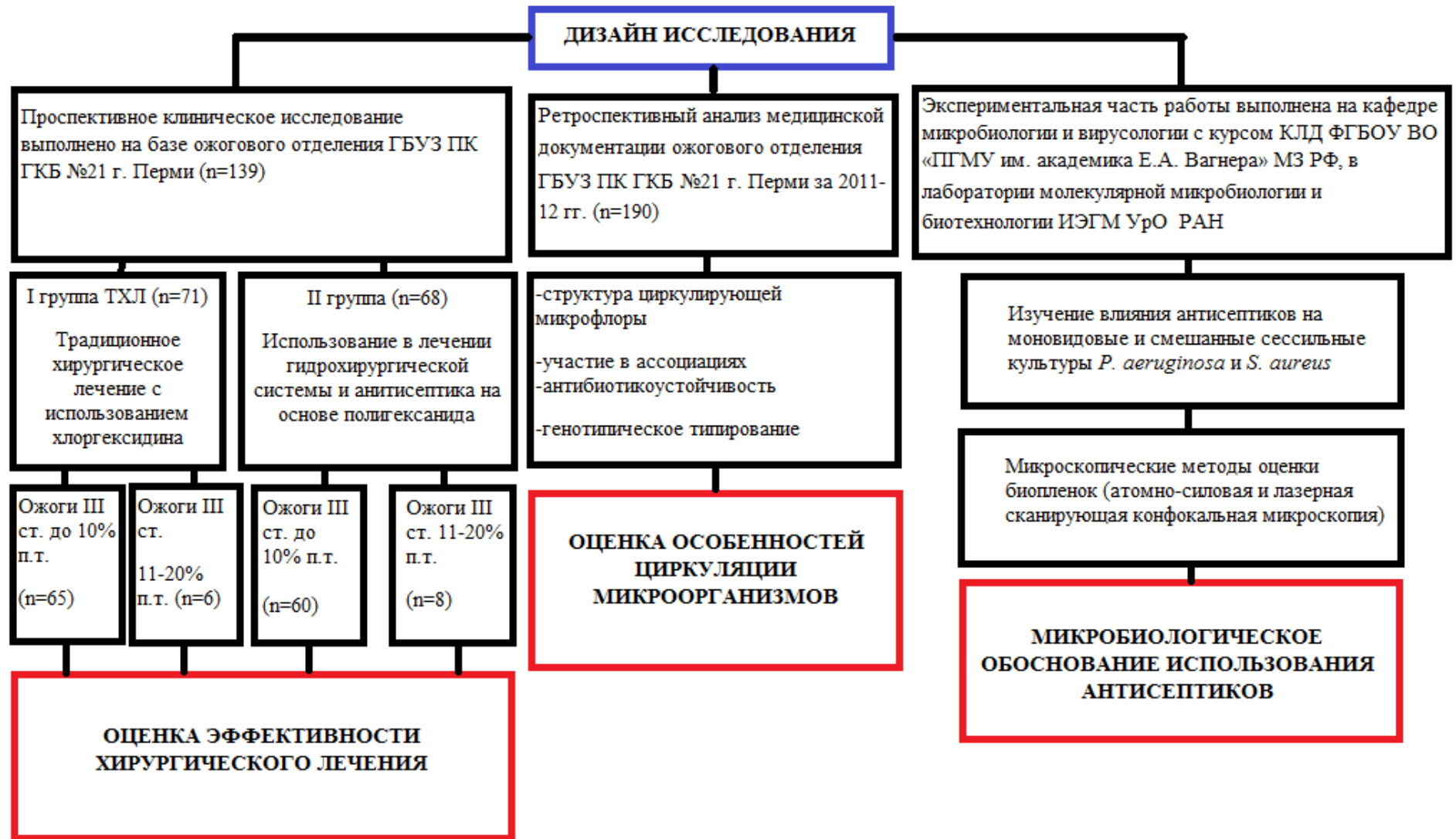


Рисунок 3. Дизайн исследования.

В первой группе пациентов (n=71) применяли традиционное хирургическое лечение (ТХЛ) с ожиданием подготовки ожоговых ран к аутодермопластике и использовали в послеоперационном периоде 0,05% раствор хлоргексидина.

Вторую группу (n=68) составили больные, у которых проводилось активное хирургическое лечение в виде гидрохирургической обработки гранулирующих ран (ГХОГР), с одномоментной аутодермопластикой (АДП) и использованием в послеоперационном периоде раствора антисептика на основе полигексанида «Пронтосан®».

Объективному осмотру предшествовал сбор анамнеза. При выявлении сопутствующих заболеваний пациенты были проконсультированы узкими специалистами (эндокринолог, кардиолог, пульмонолог).

Всем больным выполняли комплексное обследование с применением общеклинических, лабораторных и инструментальных методов исследования. Общеклинические рутинные методы исследования включали общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови (общий белок, альбумин, общий билирубин, активность трансаминаз, глюкоза, креатинин). В комплекс обязательных методов исследования входили также электрокардиография (ЭКГ), рентгенография органов грудной клетки, бактериологические посевы.

Для более детального сравнения больные каждой группы были разделены на 2 подгруппы, в зависимости от площади глубокого ожога. Первую подгруппу составили пациенты с площадью глубоких ожогов не превышающей 10% п.т. Во вторую подгруппу вошли пострадавшие с ожогами III степени и площадью повреждения от 11 до 20% п.т.

### **2.1.1. Определение площади ожога**

Для определения площади ожога, при лечении взрослых пациентов, используются два наиболее удобных к практическому применению и наименее трудоемких способа. Первый из них – это метод, предложенный А. Wallace в 1951 г., известный как правило «девятки». При этом принимается, что площадь каждой анатомической области в процентах составляет число, кратное 9. Распределение частей тела по площади следующее: верхние конечности составляют 9% каждая;

нижняя конечность – 18%, передняя и задняя поверхности туловища – по 18%; голова и шея – 9%; промежность и половые органы – 1%.

Другой распространенный метод – это правило ладони. Ранее считали, что площадь ладони составляет примерно 1-1,1% от общей площади тела, но имеются и другие данные. В результате проведенных антропометрических исследований J. Grazer и соавт. (1997) пришли к выводу, что площадь ладони у взрослого человека составляет 0,78% от общей площади поверхности тела. Вместе с тем, очень большая точность определения площади ожога не нужна, и ошибки в пределах 1-2% вполне допустимы, поэтому мы принимали площадь ладони за 1%.

### **2.1.2. Определение глубины ожога**

Международная классификация МКБ-10 включает в себя три степени ожогов. В России используют четырехступенчатую классификацию, принятую в 1960 г. Ниже приведено соответствие международной и российской классификаций:

I – поверхностный ожог (соответствует в российской классификации I степени); II – поверхностный с поражением эпидермального слоя и верхнего слоя дермы (соответствует II и III степени); III – глубокий ожог – тотальный некроз дермы (соответствует III и IV степени).

### **2.1.3. Клинические критерии эффективности хирургического лечения**

Клиническими критериями эффективности хирургического лечения являлись: длительность предоперационной подготовки; срок восстановления кожного покрова (после начала оперативного лечения); длительность стационарного лечения; частота местных послеоперационных осложнений (лизис трансплантатов), бактериальная обсемененность в динамике.

Предоперационная подготовка оценивалась по двум критериям: подготовка к операции аутодермопластики с момента ожоговой травмы и количество дней подготовки от дня поступления пациента в стационар. Восстановление кожного покрова считалось после полной эпителизации всех остаточных ран. К местным

послеоперационным осложнениям относили лизис аутодермотрансплантатов, т.е. развитие нагноения ожоговых ран в ближайшем послеоперационном периоде. Такое расплавление пересаженных аутодермотрансплантатов в последующем приводило к повторным операциям. В нашем исследовании аутолоскуты не фиксировались, поэтому механическое смещение не учитывали как осложнение. Другие осложнения встречались редко и в данном исследовании не учитывались. Учитывались также и другие показатели: средняя площадь ГХОГР и аутодермопластики.

Эффективность хирургического лечения проводилась на основании клинических и лабораторных данных. Результат считали хорошим, если лизис аутодермотрансплантатов был не более 5%, удовлетворительным – от 6 до 10%, неудовлетворительным – от 11 до 40%.

#### **2.1.4. Общая характеристика пациентов**

В работе были изучены результаты традиционного хирургического лечения (ТХЛ) пациентов с глубокими ожогами ШБ - IV степени от 1 до 20% поверхности тела, которые составили I группу (n=71). Средний возраст колебался в пределах  $54,8 \pm 14,1$  лет.

Полученные результаты были сравнены со II группой больных (n=68), которым производилась гидрохирургическая обработка гранулирующих ран. В данную группу вошли пациенты в возрасте от 38 до 87 лет ( $61,6 \pm 10,2$  лет), находившиеся на лечении в ожоговом отделении Пермской клинической больницы № 21.

Большинство пациентов в обеих сравниваемых группах составили мужчины, в первой группе 41 (58%), а во второй 42 (62%) человека. Основным этиологическим фактором термических ожогов в обеих группах явилось пламя (Таблица 1).

**Распределение больных в I и II группе по травмирующему фактору**

Травмирующий фактор	I группа (n=71)		II группа (n=68)	
	n	%	n	%
Пламя	43	60,6	34	50
Горячая вода	19	26,8	6	8,8
Контактные ожоги	7	9,9	24	35,3
Электроожоги	2	2,7	4	5,9
Итого	71	100	68	100

Данные пациентов в обеих группах были сопоставимы, а разница всех параметров была статистически недостоверной (Таблица 2). Эти обстоятельства позволили считать первую и вторую группу пригодными для сравнения.

Таблица 2

**Сравнительная характеристика I и II групп**

Параметры	I группа (n=71)	II группа (n=68)
Число пациентов в группе	71	68
Средний возраст	61,6±10,2	54,8±14,1
Средняя площадь глубоких ожогов % п.т.	4,8±2,1%	4,6±3,1%
Средняя площадь ожогов % п.т.	12±8,4%	12±6,9%
Частота возникновения ожоговой болезни %	29,4% (n=20)	19,7% (n=14)

У пациентов, принимавших участие в исследовании, общая площадь ожогов составляла от 3% до 43% поверхности тела. Это площадь всех ожогов I, II, III степени, которые были зафиксированы при поступлении больного в отделение. В первой и второй группе средняя площадь общих ожогов отличается незначительно, 12±8,4% и 12±6,9% п.т., соответственно. Однако во второй группе,



число пациентов с площадью ожогов, не превышающей 10%, было выше (n=44) (Таблица 3).

Таблица 3

**Распределение больных по общей площади ожога**

Общая площадь ожога, %	I группа (n=71)		II группа (n=68)	
	Число больных	%	Число больных	%
До 10	42	59,2	44	64,7
11-20	20	28,2	10	14,7
21-30	3	4,2	8	11,8
31-40	5	7	6	8,8
Более 40	1	1,4	-	-
Итого	71	100	68	100

Площадь ожогов III степени в первой группе составила от 1 до 20% поверхности тела, в группе сравнения от 1 до 12% п.т. Нами было решено распределить группы по двум подгруппам, в зависимости от площади глубоких ожогов, для более детального сравнения (Таблица 4).

Таблица 4

**Распределение больных по подгруппам в зависимости от площади глубоких ожогов**

Площадь ожога III ст., %	I группа (n=71)			II группа (n=68)		
	Число больных	%	Средняя площадь ожога	Число больных	%	Средняя площадь ожога
До 10	65	91,5	3,5±2	60	88,2	3,9±1,3
11-20	6	8,5	14±2,8	8	11,8	11,5±0,5
Всего	71	100	4,6±3,1	68	100	4,8±2,1

Пациенты в обеих исследуемых группах поступали в ранние сроки (Таблица 5). Так в первой группе в первые трое суток поступило 55,8%, во второй – 85,9% больных.

**Время поступления больных в стационар от момента травмы**

Срок поступления, сутки	I группа (n=71)		II группа (n=68)	
	Число больных	%	Число больных	%
1-3	61	85,9	38	55,8
4-10	5	7	18	26,5
11-20	3	4,2	6	8,8
Более 20	2	2,8	6	8,8
Итого	71	100	68	100

При анализе ожоговой болезни у пациентов из исследуемых групп выяснилось, что стадия ожогового шока в I группе была диагностирована у 9,9% пострадавших (7 пациентов из 14); стадия ожоговой токсемии отмечена у 5,6% пострадавших при поступлении (у 4 больных из 14); ожоговая септикотоксемия выявлена у троих человек (4,2%). Во второй группе стадия ожогового шока была у 8 пациентов (11,8%), ожоговая токсемия – у 12 (17,7%). В целом ожоговая болезнь развилась у 14 (19,7%) человек из I группы и у 20 (29,4%) из II группы. Диагноз ожоговой болезни устанавливался на основании общей площади ожога, наличия гемоконцентрации, гиповолемии. Кроме этого признаками ожогового шока служили олиго- и анурия, нарушения водно-электролитного баланса и кислотно-щелочного баланса.

### **2.1.5. Традиционное хирургическое лечение пациентов с ожогами III степени**

Традиционное хирургическое лечение ожогов III степени заключалось в следующем: удаление струпа с раны производилось путем хирургической или химической некрэктомии, которые проводилось в перевязочной комнате под внутривенным наркозом. Далее подготовка к свободной кожной аутодермопластике велась консервативно. После удаления всех девитализированных тканей перевязки проводились через день, в отдельных случаях ежедневно, с различными антисептиками. Использовались влажно-высыхающие повязки, пропитанные раствором хлоргексидина, фурацилина, йодопирона, а также мази на жирно- и водорастворимой основе. Тактика

использования того или иного препарата определялась состоянием раневого ложа и количеством отделяемого. Подобное лечение проводилось до тех пор, пока раны не достигали критериев готовности гранулирующих ран к аутодермопластике. Затем выполнялась свободная кожная пластика расщепленным перфорированным трансплантатом 0,2-0,3 мм. За одну операцию площадь закрываемой поверхности не превышала 10% п.т. Следующая перевязка производилась на пятый день после оперативного лечения. Кроме этого, выполняли забор бактериологического материала с раневой поверхности до оперативного лечения и на пятые сутки после.

#### **2.1.6. Лечение пациентов с использованием гидрохирургической системы и антисептика на основе полигексанида**

В первые дни после поступления пациента местная терапия была направлена на формирование сухого ожогового струпа. Для этого применяли влажно-высыхающие повязки с такими растворами, как 1% раствор йодопирона, 0,05% раствор хлоргексидина, 0,02% раствор фурацилина. Для этой цели эффективным было использование потоков сухого тёплого воздуха, некоторые пациенты находились в флюидезирующих кроватях. После этого выполнялась некрэктомия, иногда после химического некролиза. Для выполнения химической некрэктомии требовалось предварительное наложение 40% салициловой мази. Сверху поверхность закрывалась марлевыми салфетками, сложенными в несколько слоев. Через сорок восемь часов после нанесения некролитика производилась некрэктомия. В случае обширных глубоких ожогов производилось этапное удаление струпа в два или три этапа.

Показанием для проведения этапной хирургической некрэктомии были пациенты с тяжёлой сопутствующей патологией, старческого возраста, с наличием влажного струпа. При позднем поступлении в стационар у пациентов было самопроизвольное отторжение некротических тканей. После удаления струпа ожоговая рана представляла собой неровную поверхность формирующейся грануляционной ткани, с обильным отделяемым, остатками

влажного некроза и фибрина. В дальнейшем раны готовили к оперативному лечению, проводя 1-2 перевязки с современными раневыми покрытиями.

Полной подготовки раневой поверхности к оперативному лечению не дожидались. После уменьшения гнойно-некротического отделяемого рана подвергалась гидрохирургической обработке.

В основу использования гидрохирургической системы заложена подача жидкости, в нашем случае это был стерильный физиологический раствор, в высоком скоростном режиме. Во время обработки сохраняются здоровые тканевые структуры. В зоне работы насадки создаётся локальный вакуум. Все нежизнеспособные ткани удаляются в аспирационный контейнер. Существуют 10 режимов работы прибора. От режима зависит давление и скорость подачи водной струи. Минимальное давление составляет 1500 Паскалей, максимальное не превышает 12000 Паскалей. Скорость подаваемой жидкости колеблется в пределах от 426 км/ч до 1078 км/ч. Чем выше скорость и давление, которое задаётся оператором, тем выше обрабатывающий эффект. Преимуществами гидрохирургической системы являются: возможность работы на ранах со сложным рельефом поверхности, одновременное удаление из оперируемого поля крови и нежизнеспособных тканей, в ходе обработки создаётся гладкая поверхность, возможность использования системы у тяжелых пациентов. После тщательного гемостаза обработанных раневых поверхностей производилась свободная кожная пластика перфорированными кожными трансплантатами. На аутодермотрансплантаты накладывались влажно-высыхающие повязки, пропитанные раствором «Пронтосана®». Контроль проведенного оперативного лечения выполнялся через 5 дней. Кроме того, оценивали бактериальную обсемененность раны до и после гидрохирургической обработки и на пятый день после оперативного лечения.

## **2.2. Анализ медицинской документации**

Проанализированы показатели медицинской документации ожогового отделения ГБУЗ ПК ГKB №21 г. Перми за 2011-12 гг. (n=190).

Микробиологический мониторинг раневого отделяемого обожженной поверхности пациентов проводили с января по декабрь 2012 г. Отбор проб и бактериологическое исследование выполняли согласно Приказу МЗ СССР №535 от 22.04.85 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Оценку антибиотикочувствительности бактерий проводили в соответствии с МУК 4.2.1890-04. Анализ структуры циркулирующей микрофлоры и ее чувствительности к антибиотикам осуществляли с помощью программы WHONET v.5.3. Всего обобщены результаты микробиологического анализа 208 проб биологического материала. Индекс встречаемости представителей отдельных видов рассчитывали по формуле:  $C=p \times 100/P$ , где  $C$  – индекс встречаемости,  $p$  – число проб, в которых обнаружены бактерии данного вида,  $P$  – общее число проанализированных проб.

## 2.3. Экспериментальная часть

### 2.3.1. Бактериальные штаммы

В работе использовали референтные штаммы *S. aureus* ATCC®29213 и *P. aeruginosa* ATCC®27853, полученные из ФГБУ «Государственный институт стандартизации и контроля им. Л.А. Тарасевича» Минздрава РФ (Москва), а также клинические изоляты *S. aureus* (n=39) и *P. aeruginosa* (n=12).

### 2.3.2. Среды и условия культивирования

Цетримидный агар готовили на основе среды Кинг А с добавлением цетримида – 03 г/л.

Кинг А, «Тесч» (г/л): панкреатический перевар животной ткани – 20,0; магния хлорид – 1,4; калий серноокислый – 10,0; агар-агар – 15,0; глицерол – 10,0; рН 7,2±0,2.

Луриа-Бертани (LB) бульон/агар, «Sigma» (г/л): триптон – 10,0; дрожжевой экстракт – 5,0; натрия хлорид – 10,0; агар-агар – 15,0; рН 7,0±0,2.

Фосфатно-буферная среда (ФБС): 0,1 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 19,2 мл; 0,1 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – 80,8 мл; дистиллированная вода – до 1 л; рН 7,2±0,2.

Желточно-солевой агар (ЖСА): мясная вода – 1000 мл; хлористый натрий – 75,0; пептон – 10,0; агар-агар – 20,0; 20% желточная взвесь.

Для выделения и контроля чистоты *P. aeruginosa* был использован цетримидный агар, рекомендованный для выделения и дифференцировки данных микроорганизмов в клинической практике. Выращивание культур проводили в LB-бульоне. Хранение чистых культур осуществляли во флаконах на скошенном LB-агаре под вазелиновым маслом при -4°C.

ЖСА – селективная для стафилококков среда. Высокое содержание натрия хлорида подавляет большинство бактерий, которые встречаются в ассоциациях со стафилококком, а присутствие яичного желтка выявляет свойственный этому роду фермент лецитиназу.

### 2.3.3. Молекулярно-генетические исследования

В течение 2012 г. формировали банк ДНК культур *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*. Тотальную ДНК изолятов *S. aureus* получали методом щелочного лизиса, грамотрицательных бактерий – как описано Stone G.G. et al. (1999).

#### 2.3.3.1. Определение детерминант антибиотикоустойчивости

Скрининг генов металло-бета-лактамаз (*bla<sub>VIM-2</sub>*) у штаммов *P. aeruginosa* осуществляли с использованием праймеров VIM2f (5'-ATGTTCAAACCTTTGAGTAGTAAG) /VIM2r (5'-CTACTCAACGACTGAGCG), предложенных Poirel L. et al. (2000), размер фрагмента 801 п.н. Наличие интегров 1-го класса у грамотрицательных неферментирующих бактерий выявляли с праймерами INT-F (5'-CTCTCACTAGTGAGGGGC) /INT-R (5'-ATGAAAACCGCCACTGCG), комплементарными «интегразной» последовательности (*intI1*), размер фрагмента 1010 п.н. (Gutiérrez O. et al., 2007) и с праймерами 5'CS/3'CS (Levesque C. et al., 1995). Детекцию генов оксациллиназ (OXA-10 и его производных) проводили с праймерами ABD1 (5'-TATCGCGTGTCTTTGAGTA) / ABD4 (5'-TTAGCCACCAATGATGCCC), размер фрагмента 869 п.н. (Danel F. et al., 1995). Электрофоретическое разделение

продуктов реакции проводили в 1,2% агарозном геле при напряженности электрического поля 6 В/см.

### **2.3.3.2. Методы генетического типирования**

Генетическое типирование штаммов проводили посредством гер-ПЦР с праймерами ERIC2 и BOXA1R и RAPD-ПЦР с праймером M13 (Huey B. et al., 1989; Wolska K. et al., 2011). Олигонуклеотидные праймеры были синтезированы ООО «Синтол» (г. Москва). Амплификацию проводили на термоциклере DNA Engine Dyad Thermal Cycler («Bio-Rad», США). Протоколы ПЦР соответствовали рекомендациям авторов, предложивших используемые праймеры. Температура отжига при проведении RAPD-ПЦР и ERIC-ПЦР: 45°C – 1 мин; BOX-ПЦР: 48°C – 2 мин. Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 1,2% агарозном геле при напряженности электрического поля 6 В/см. Визуализацию полос и документирование данных осуществляли с помощью системы геледокументации Gel-Doc XR («Bio-Rad», США). Дендрограммы филогенетического родства штаммов построены с применением компьютерного обеспечения Quantity One (версия 4.6.1, Bio-Rad Laboratories, США).

### **2.3.4. Микроскопические методы оценки биопленок (атомно-силовая и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия)**

Изучение биопленок проводили с помощью комбинированной системы, состоящей из атомно-силового микроскопа (АСМ) Asylum MFP-3D-BIO (Asylum Research, США) и конфокального лазерного сканирующего микроскопа (КЛСМ) Olympus FV1000 (Olympus Corporation, Япония), в лаборатории атомно-силовой и конфокальной микроскопии на базе *Rhodococcus*-центра Пермского государственного национального исследовательского университета.

Подсчет клеток и оценку их жизнеспособности выполняли после получения КЛСМ-изображений (0,12 × 0,12 мм), для чего биопленки предварительно окрашивали и 15 мин выдерживали в темноте с флуоресцентным красителем LIVE/DEAD® *BacLight*<sup>TM</sup> Bacterial Viability Kit (Invitrogen, США). Количество жизнеспособных и нежизнеспособных клеток подсчитывали не менее, чем в пяти

полях после нанесения сетки на образец (размер ячеек  $0,024 \times 0,024$  мм). Толщину биопленки определяли методом послойного КЛСМ-сканирования. Обработку КЛСМ-изображений осуществляли с использованием программы FV10-ASW 3.1 (Olympus Corporation, Япония). Профили поверхности бактериальных биопленок изучали с помощью АСМ. Сканирование проводили в полуконтактном режиме на воздухе с использованием кремниевого кантиливера AC240TS с резонансной частотой 50-90 кГц и константой жесткости 0,5-4,4 Н/м. Для определения линейных размеров клеток (диаметр для кокков, длина и ширина для палочек), характеристики структуры поверхности (шероховатость, Sq) и высоты биопленки получали двух- и трехмерные топографические изображения бактерий. Обработку полученных изображений проводили с помощью программы Iqog Pro 6.22A (WaveMetrics, США).

### **2.3.5. Эксперименты по изучению влияния антисептиков на моновидовые и смешанные сессильные культуры *P. aeruginosa* и *S. aureus***

В первом варианте биопленки выращивали на покровных стеклах ( $18 \times 60$  мм) в бульоне Лурия-Бертани (среда LB) в чашках Петри при температуре  $37^\circ\text{C}$  в течение 20 часов. Затем стекла трехкратно отмывали 0,01 М фосфатно-буферной средой (ФБС, pH  $7,2 \pm 0,2$ ), погружали на 1 час в 0,05% водный раствор хлоргексидина биглюконата или «Пронтосана<sup>®</sup>» (0,1% ундециленовый амидопропил-бетаин, 0,1% полиаминопропил бигуанид – полигексанид), трехкратно отмывали ФБС и просушивали препараты на воздухе в течение 20 мин. Концентрация хлоргексидина была выбрана в соответствии с тем, что в данной концентрации антисептик наиболее часто используется в хирургической практике. Оценку морфометрических показателей, шероховатости поверхности биопленки и жизнеспособности клеток в ее составе проводили с помощью АСМ и КЛСМ как описано в разделе 2.3.4.

Во втором варианте биопленки получали согласно O'Toole G.F. и Kolter R. (1998). Суточные культуры бактерий стандартизовали до 2,0 по McFarland и разводили 1:100 в LB-бульоне. В лунки полистиролового 96-ти луночного плоскодонного планшета (Медполимер, Россия) вносили по 0,1 мл разведенной



бульонной моновидовой культуры бактерий и 0,1 мл LB-среды, при получении смешанной биопленки – по 0,1 мл бульонных культур обоих видов. Биопленки выращивали статически в термостате при температуре 37°C в течение 20 часов. После удаления планктонной культуры в опытную часть лунок вносили раствор хлоргексидина или «Пронтосан®», выдерживали 1 час, трехкратно отмывали ФБС. Биомассу биопленки оценивали по уровню экстракции этанолом 0,1% водного раствора генцианвиолета, который измеряли на микропланшетном ридере Benchmark Plus (Bio-Rad, США) при длине волны 580 нм в единицах оптической плотности (Ед, ОП<sub>580</sub>). Для оценки жизнеспособности клеток в биопленках последние трехкратно отмывали, вносили в лунки 100 мкл ФБС и пятикратно обрабатывали ультразвуком в течение 1 мин при 37 кГц, поместив планшеты в ультразвуковую ванну Elma Ultrasonic 30S (Elma, Германия). Жизнеспособность клеток оценивали по числу колониеобразующих единиц (КОЕ) после высева из последовательных десятичных разведений бактериальных суспензий на селективные среды: желточно-солевой агар для *S. aureus* и цетримидный агар для *P. aeruginosa*.

#### 2.4. Статистические методы

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерных программ Microsoft Excel 2016 и STATISTICA 10.0. Вид распределения исследуемых признаков определяли с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Показатели представлены в виде среднего арифметического и его ошибки ( $M \pm m$ ). Достоверность отличий определяли по критерию Стьюдента ( $t$ ). Различия считали достоверными при  $p \leq 0,05$ . В случае, если распределение в выборке не могло характеризоваться как нормальное, рассчитывали медиану ( $Me$ ), квартили [ $Q1$ ;  $Q3$ ] и межквартильный размах. Для выявления значимых различий двух зависимых выборок использовали непараметрический критерий Вилкоксона ( $W$ -test). Достоверность отличий двух независимых выборок определяли по критерию Манна-Уитни ( $U$  test). Различие показателей считали значимым при  $p < 0,05$ .

Для исследования связи двух признаков вычисляли коэффициент корреляции Пирсона ( $r$ ) или Спирмана ( $R$ ) в зависимости от нормальности распределения. Критерий Фишера ( $\varphi^*$ -критерий) использовали, когда надо было вычислить точную вероятность наблюдаемого расположения данных в результате рассмотрения всех возможных предельных случаев их расположения.

## ГЛАВА 3. ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ С ОЖОГАМИ III СТЕПЕНИ

### 3.1. Результаты традиционного хирургического лечения

Пациенты с традиционным хирургическим лечением составили первую группу (n=71). Всего было выполнено 89 операций по пересадке аутодермотрансплантатов. За одну процедуру производилось закрытие ожоговых поверхностей от 1 до 10% поверхности тела, средняя площадь составила  $3,5 \pm 1,8\%$  п.т. (Таблица 6).

Таблица 6

**Средняя площадь аутодермопластики**

Площадь глубоких ожогов, %	Число пациентов в группе	Средняя площадь первой аутодермопластики, %
до 10 (n=65)	58	$3,9 \pm 1,3$
11-20 (n=6)	13	$6,3 \pm 1,4$
Итого	71	$3,5 \pm 1,8$

У 58 (81,6%) пациентов восстановление кожных покровов было выполнено за одно оперативное вмешательство. В 18 случаях потребовалось несколько операций аутодермопластики для полного восстановления кожных покровов. За два оперативных вмешательства аутодермопластическое закрытие всех глубоких ожогов удалось выполнить у 10 (14%) пациентов, за три операции у 7 (5,6%) человек и у одного пострадавшего потребовалось проведение четырёх аутодермопластик. Средняя площадь глубоких ожогов у пациентов с этапным хирургическим лечением составила  $11,8 \pm 3\%$ . При этом у пяти (27,7%) из восемнадцати повторные вмешательства были связаны с лизисом трансплантатов. Тринадцати (72,3%) пациентам этапные аутодермопластики выполнялись в связи с тяжестью состояния из-за обширных ожогов. Традиционная аутодермопластика в среднем проводилась на  $26,8 \pm 5,7$  день после поступления и  $29,2 \pm 5,6$  сутки после травмы.

Для удаления ожогового струпа у сорока пяти пациентов при подготовке ран к хирургическому лечению применялась химическая некрэктомия (ХимНЭ). Этапные некрэктомии во время перевязок выполнены в 26 случаях. Сроки подготовки к традиционному хирургическому лечению отличались незначительно (Таблица 7).

Таблица 7

**Средний срок выполнения ТХЛ  
с момента травмы в зависимости от вида некрэктомии и площади ожога III  
степени**

Площадь глубоких ожогов, %	Сроки выполнения ТХЛ, сутки		
	Химическая некрэктомия	Этапная хирургическая некрэктомия	Общие данные
До 10 (n=65)	26,6±4,9	28,5±5,9	27,3±5,3
11-20 (n=6)	24,2±5,7	23±2	23,8±4,5
Итого	26,4±5	28±5,8	26,7±5,7

Одним из важных показателей является срок подготовки к оперативному лечению от момента травмы. У пациентов с традиционным хирургическим лечением эта цифра составила 26,7±5,7 суток. Разница между группой с ограниченными глубокими ожогами и обширными была незначительна и статистически недостоверна. Однако в группе с площадью ожогов от 11 до 20% отмечается уменьшение сроков предоперационной подготовки от момента травмы. По нашему мнению, это связано с более ранней госпитализацией таких пациентов в специализированные стационары и, как следствие, адекватной подготовкой ран к оперативному лечению в сжатые сроки. Тенденция к увеличению продолжительности сроков предоперационной подготовки объясняется поздним поступлением больных, которым производились этапные хирургические некрэктомии. Как правило, таким больным химическая некрэктомия не выполнялась, по причине наличия влажного некротического струпа на ране.

Традиционное хирургическое лечение проводилось в среднем на  $21,2 \pm 4,7$  день с момента поступления пострадавшего в стационар (Таблица 8). Сравнение средних величин в группах с ограниченными и обширными глубокими ожогами не выявило статистической разницы.

Таблица 8

**Средний срок выполнения ТХЛ  
с момента поступления в зависимости от вида некрэктомии и площади ожога  
III степени**

Площадь глубоких ожогов, %	Сроки выполнения ТХЛ, сутки		
	Химическая некрэктомия	Этапная хирургическая некрэктомия	Общие данные
До 10 (n=65)	$21 \pm 4,4$	$22 \pm 4,5$	$21,4 \pm 4,4$
11-20 (n=6)	$23,5 \pm 7,2$	$12,5 \pm 1,5$	$19,8 \pm 7,1$
Итого	$21,2 \pm 4,6$	$21,3 \pm 4,8$	$21,2 \pm 4,7$

Анализ времени восстановления кожных покровов и сроков стационарного лечения, от вида выполняемой некрэктомии, не выявил статистической достоверности ни в одном случае, что позволило считать основным критерием сравнения отсутствие гидрохирургической обработки гранулирующих ран на этапе подготовки к аутодермопластике с использованием в послеоперационном периоде повязок с раствором хлоргексидина.

Полную эпителизацию всех ожоговых ран считали как длительность восстановления кожного покрова со дня первой операции. Размер ячеек для перфорации кожных лоскутов составил 1:2 при глубоких ожогах до 10% п.т. и 1:4 при обширных ожогах. На функционально значимые зоны использовались неперфорированные аутодермотрансплантаты. Полное восстановление кожного покрова после традиционного хирургического лечения составило  $16,8 \pm 2,6$  (Chi-square:  $p=0,0113$ ) суток (Таблица 9). Логичным является и то, что с увеличением площади ожоговых ран, увеличиваются и сроки эпителизации.

**Средние сроки восстановления кожного покрова после ТХЛ в зависимости от площади глубокого ожога**

Площадь глубоких ожогов, %	Средний срок эпителизации ран после операции, сутки
До 10 (n=65)	15,7±1,4
11-20 (n=6)	27,8±2,8*
Итого	16,8±2,6*

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями (p<0,05).

Пропорционально восстановлению кожного покрова увеличивались и сроки пребывания в стационаре. Длительность стационарного лечения в среднем составила 47±9,6 (Chi-square: p=0,0024) (Таблица 10).

Таблица 10

**Средние сроки продолжительности стационарного лечения при использовании ТХЛ в зависимости от площади глубокого ожога**

Площадь глубоких ожогов, %	Средние сроки продолжительности стационарного лечения, сутки
До 10 (n=65)	45,8±9,1
11-20 (n=6)	59,3±4,4*
Итого	47±9,6*

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями (p<0,05).

Доля лизиса в исследуемой группе составила 18 (20,2%) случаев (Таблица 11). Меньший процент лизиса трансплантатов был отмечен в группе с глубокими ожогами, не превышающими 10% п.т., что составило 7,8%. При ожогах III степени более 11% п.т. частота лизиса увеличилась до 11 эпизодов (12,3%). Тотального и субтотального случаев лизиса трансплантатов в этой группе не наблюдалось.

**Частота лизиса трансплантатов при ТХЛ в зависимости от площади  
ожога III степени**

Площадь глубоких ожогов, %	Число АДП	Лизис			Всего	
		До 5%	6-10%	11-40%	n	%
До 10 (n=65)	72	3	4	-	7	7,8
11-20 (n=6)	17	4	4	3	11	12,3*
Итого	89	7	8	3	18	20,2

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

Бактериальная обсемененность ожоговых ран колебалась в широких пределах от  $1,00E+01$  до  $1,00E+07$  (40 проб). Средний уровень перед АДП составлял  $3,29E+05 \pm 1,46E+05$ . При этом уровень критической обсемененности ожоговых ран  $\times 10^5$  был превышен в 11 случаях (27,5%). На 5 день после оперативного лечения показатель бактериальной обсемененности остаточных ран составил  $4,46E+04 \pm 1,60E+05$ . После аутодермопластики у 8 (20%) из 40 пациентов уровень бактериальной обсемененности превысил критическое значение. Такие показатели коррелируют с частотой лизиса трансплантатов. До оперативного лечения в монокультуре в одиннадцати случаях (27,5%) встречалась *P. aeruginosa* и в восьми (20%) – *S. aureus*. Ассоциация *P. aeruginosa* и *S. aureus* отмечена в пяти (12,5%) посевах.

На пятый день после традиционного хирургического лечения в бактериологических посевах остаточных ран доминировали ассоциации *P. aeruginosa* и *S. aureus*, что составило 6 (15%) случаев. Монокультуры *P. aeruginosa* и *S. aureus* отмечены в 5 (12,5%) и 4 (10%) посевах, соответственно. Клинические примеры представлены на рисунках 4 и 5.

А



Б



В



Г



Рисунок 4. Пациент Щ. 38 лет, история болезни №1121/323: А – ожог III степени левой голени на площади 5% п.т.; Б – вид раны после некрэктомии; В – вид раны после аутодермопластики; Г – вид раны на 7 сутки после аутодермопластики.

А



Б







Рисунок 5. Больная С., 83 года, история болезни №167/141: А – ожог контактный III степени левого плеча на площади 6% п.т.; Б – вид раны перед аутодермопластикой; В – аутодермопластика расщепленным перфорированным свободным лоскутом; Г – вид раны на 5 сутки после аутодермопластики.

Таким образом, получены следующие результаты восстановления кожного покрова путем традиционного хирургического лечения с использованием в послеоперационном периоде раствора хлоргексидина. Средний срок выполнения оперативного лечения после получения травмы и со дня поступления в стационар составил  $26,7 \pm 5,7$  и  $21,2 \pm 4,7$  день, соответственно. Время восстановления кожного покрова после первой аутодермопластики был  $16,8 \pm 2,6$  суток. Самым важным показателем, характеризующим эффективность проводимого лечения, является продолжительность стационарного лечения, которая в данной группе составила  $47 \pm 9,6$  дней (Chi-square:  $p=0,0024$ ). Степень осложнений в виде частичного лизиса пересаженных кожных лоскутов составил 20,2% случаев. Субтотальных и тотальных случаев лизиса отмечено не было. Отмечалось увеличение бактериальной обсемененности ран с  $4,46E+04 \pm 1,60E+05$  КОЕ/мл до  $3,29E+05 \pm 1,46E+05$  ( $p < 0,05$ ) после аутодермопластики. Наиболее часто встречающимся микроорганизмом оказались бактерии *P. aeruginosa*, которые присутствовали как в виде монокультуры, так и в составе ассоциаций. В составе ассоциаций совместно высевались *P. aeruginosa* и *S. aureus*.

### **3.2. Результаты лечения пациентов с ожогами III степени в группе с гидрохирургической обработкой гранулирующих ран и антисептика на основе полигексанида**

У второй группы пациентов, состоящей из 68 человек, выполнено 76 оперативных вмешательств с применением гидрохирургической обработки гранулирующих ран и использованием в послеоперационном периоде антисептика «Пронтосан®». За одну операцию гидрохирургической обработки с одномоментной аутодермопластикой восстановление кожного покрова было достигнуто у шестидесяти (88,2%) пациентов. Два оперативных вмешательства выполнено у восьми (11,8%) пострадавших с глубокими ожогами, в большинстве случаев превышающими 10% п.т. У пациентов с повторным вмешательством средняя площадь глубоких ожогов составила  $4,8 \pm 2,1\%$  (Таблица 12).

Таблица 12

#### **Средняя площадь ГХОГР с одномоментной аутодермопластикой**

Площадь ожогов глубоких ожогов, %	Средняя площадь гидрохирургического иссечения и АДП, %
до 10 (n=60)	$3,8 \pm 1,3$
11-20 (n=8)	$7,1 \pm 1,3$
Итого (n=68)	$4,2 \pm 1,5$

Средние сроки для выполнения гидрохирургической обработки гранулирующих ожоговых ран с последующей аутодермопластикой от момента получения травмы и от начала поступления в специализированное отделение составили  $22,2 \pm 2,6$  и  $11,5 \pm 1,6$  суток, соответственно (Таблица 13). Мы предположили, что сроки проведения восстановления кожного покрова могут зависеть от способа удаления струпа, так, химическая некрэктомия была выполнена у 51 пациента, тогда как этапная хирургическая некрэктомия была применена для подготовки ожоговых ран к аутодермопластике у 17 человек. Тактики этапного хирургического удаления ожогового струпа придерживались в случаях позднего поступления в стационар, при наличии влажного некроза.

**Средний срок выполнения ГХОГР и аутодермопластики  
с момента травмы в зависимости от вида некрэктомии и площади ожога III  
степени**

Площадь глубоких ожогов, %	Сроки выполнения ГХОГР, сутки		
	ХимНЭ	ЭХН	Общие данные
До 10 (n=60)	21,02±2,4	24,7±3*	21,9±2,6
11-20 (n=8)	23,4±0,8	26±1,3	24,4±1,5
Итого	21,2±2,4	24,9±2,8*	22,2±2,6

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

Как показало сравнение данных предоперационной подготовки по способу освобождения ран от некроза, средние сроки с момента травмы отличались незначительно и составили 21,9±2,6 и 24,4±1,5 дня, соответственно (Таблица 13). Статистическая достоверность ( $p < 0,05$ ) была получена в группе пациентов с глубокими ожогами не превышающими 10% п.т. Так при выполнении химической некрэктомии струп удалялся на трое суток раньше, чем при этапных операциях.

В группе пациентов с площадью глубоких ожогов более 11% п.т. разница составила двое суток. Статистической разницы выявлено не было, это может быть связано с тем, что количества человек в группах недостаточно для сравнения.

Общие результаты отличались незначительно. Достоверная разница составила трое суток 21,2±2,4 и 24,9±2,8 дня, соответственно (Таблица 13). Более позднее выполнение этапной хирургической некрэктомии объясняется тем, что пострадавшие поступали позднее и имели влажный некротический струп, который удалялся во время перевязок.

Предоперационная подготовка со дня поступления в стационар у пациентов с глубокими ожогами до 10% п.т. отличалась незначительно. При переходе во вторую подгруппу увеличивалось количество дней до предоперационной подготовки с момента поступления в стационар, причем у больных с этапной хирургической некрэктомией разница составила 1 сутки (Таблица 14).

**Средний срок выполнения ГХОГР и аутодермопластики  
с момента поступления в зависимости от вида некрэктомии и площади ожога  
III степени**

Площадь глубоких ожогов, %	Сроки выполнения ГХОГР, сутки		
	ХимНЭ	ЭХН	Общие данные
До 10 (n=60)	11,5±1,5	11±2,5	11,4±1,8
11-20 (n=8)	12,6±0,8*	13,3±0,4	12,9±0,7
Итого	11,6±1,4	11,4±2,4	11,5±1,6

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

Достоверной разницы не обнаружено. Такие результаты связаны с тем, что у пациентов с ограниченными глубокими ожогами возможна более ранняя подготовка к аутодермопластике. При обширных глубоких ожогах более 11% п.т. росла и продолжительность предоперационной подготовки и в среднем составила 12,9±0,7 суток. При анализе сроков подготовки ожоговых ран к аутодермопластике обнаружена небольшая разница в зависимости от методов некрэктомии (Таблица 14).

Интересным оказалось то, что после этапной хирургической некрэктомии средний срок предоперационной подготовки с момента поступления был меньше, чем при удалении струпа методом химического некролиза. Разница статистически достоверна. Такие результаты связаны с тем, что для этапного удаления струпа больные поступали уже с гранулирующими ранами, но с патологическими грануляциями или с участками некроза, и у таких пациентов предоперационная подготовка была короче.

При выполнении этапных некрэктомий данные отличались на 2 суток. При выполнении химических некрэктомий у пациентов с локальными глубокими ожогами средний срок с момента поступления составил 11,5±1,5 суток, что на 1 сутки меньше, чем при обширных глубоких ожогах 12,6±0,8 дней (Таблица 14). Разница оказалась статистически достоверна. Статистической разницы длительности стационарного лечения и сроков эпителизации от метода

некрэктомии выявлено не было ( $p>0,05$ ). Это позволило объединить пациентов в одну группу, в которой основным методом оперативного лечения ожоговых ран была гидрохирургическая обработка гранулирующих ран с последующей одномоментной аутодермопластикой с применением в послеоперационном периоде раствора «Пронтосана®». Срок полного восстановления кожного покрова рассчитывали со дня первой аутодермопластики. В случае обширных ожогов - до эпителизации всех ран. При ожогах до 10% п.т. коэффициент перфорации трансплантатов был 1:2, в остальных случаях использовали сетчатые аутодермотрансплантаты с перфорацией ячеек 1:4. Неперфорированные кожные лоскуты укладывались на функционально значимые зоны.

Разница была статистически достоверна при оценке среднего срока восстановления кожного покрова, который составил  $15,6\pm 3$  дня после первой операции (Таблица 15). У пациентов с ограниченными глубокими ожогами до 10% п.т. полная эпителизация была достигнута за  $13,9\pm 0,9$  суток, что оказалось меньше, чем в группе с глубокими ожогами от 11 до 20% п.т.

Таблица 15

**Средние сроки восстановления кожного покрова после аутодермопластики с предшествующей ГХОГР в зависимости от площади глубокого ожога**

Площадь глубоких ожогов, %	Средний срок эпителизации ран после операции, сутки
До 10 (n=60)	$13,9\pm 0,9$
11-20 (n=8)	$26,5\pm 1,9^*$
Итого	$15,6\pm 3$

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p<0,05$ ).

Такое отличие связано с тем, что во второй группе понадобилось повторное проведение аутодермопластики с целью закрытия всех ожоговых поверхностей у больных с ожогами III степени более 11% п.т. Так, у пострадавших из второй подгруппы было проведено по 2 операции. Средний срок стационарного лечения составил  $27,2\pm 3,5$ . При ожогах более 11% п.т. наблюдается и увеличение времени

стационарного лечения, и в первой подгруппе это значение меньше на 14 дней. Разница статистически достоверна (Таблица 16).

Таблица 16

**Средние сроки продолжительности стационарного лечения при использовании ГХОГР с «Пронтосаном®» и аутодермопластики в зависимости от площади глубокого ожога**

Площадь глубоких ожогов, %	Средние сроки продолжительности стационарного лечения, сутки
До 10 (n=60)	25,5±1,9
11-20 (n=8)	39,9±1,8*
Итого	27,2±3,5

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями (p<0,05).

Местные осложнения в виде лизиса кожных лоскутов отмечены в 5 случаях (6,5%) из 76 оперативных вмешательств (Таблица 17). Наименьшая частота случаев лизиса отмечена в подгруппе до 10% п.т.

Таблица 17

**Частота лизиса трансплантатов при использовании ГХОГР и «Пронтосана®» в зависимости от площади ожога III степени**

Площадь глубоких ожогов, %	Число АДП	Лизис			Всего	
		До 5%	6-10%	11-40%	Кол-во	%
До 10 (n=60)	60	2	-	-	2	3,3
11-20 (n=8)	16	3	-	-	3*	3,9*
Итого	76	5	-	-	5*	6,5*

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями (p<0,05).

При обширных глубоких ожогах частота лизиса увеличивалась. Разница статистически достоверна. Тотального и субтотального лизиса аутодермотрансплантатов не наблюдалось.

Бактериальная обсемененность ожоговых ран до и после гидрохирургической обработки, а также на 5-ый день после аутодермопластики с

использованием повязок с раствором «Пронтосана<sup>®</sup>», исследована у 40 пациентов. Гидрохирургическая обработка снижает степень бактериальной обсемененности с  $2,17E+02 \pm 1,43E+02$  до  $1,60E+01 \pm 0,55E+01$  КОЕ/мл. Критический уровень микробной обсемененности перед гидрохирургической операцией превышала  $10^5$  только у 2-х (5%) из 40 обследованных больных. У 35 (87,5%) пациентов сразу после гидрохирургической обработки бактериологическое исследование показало отсутствие роста микроорганизмов. В остальных случаях наблюдался рост, не превышающий критического уровня бактериальной обсемененности. В трёх посевах обнаружены бактерии *P. aeruginosa* и по одному *S. aureus*, *A. baumannii* в виде монокультур. Это объясняется иссечением поверхностного слоя грануляций, где в основном и колонизируются бактерии. Через пять суток после аутодермопластики и использования влажно-высыхающих повязок, пропитанных раствором «Пронтосана<sup>®</sup>», в 38 пробах роста микробиоты выявлено не было.

Клинические примеры представлены на рисунках 6 и 7.

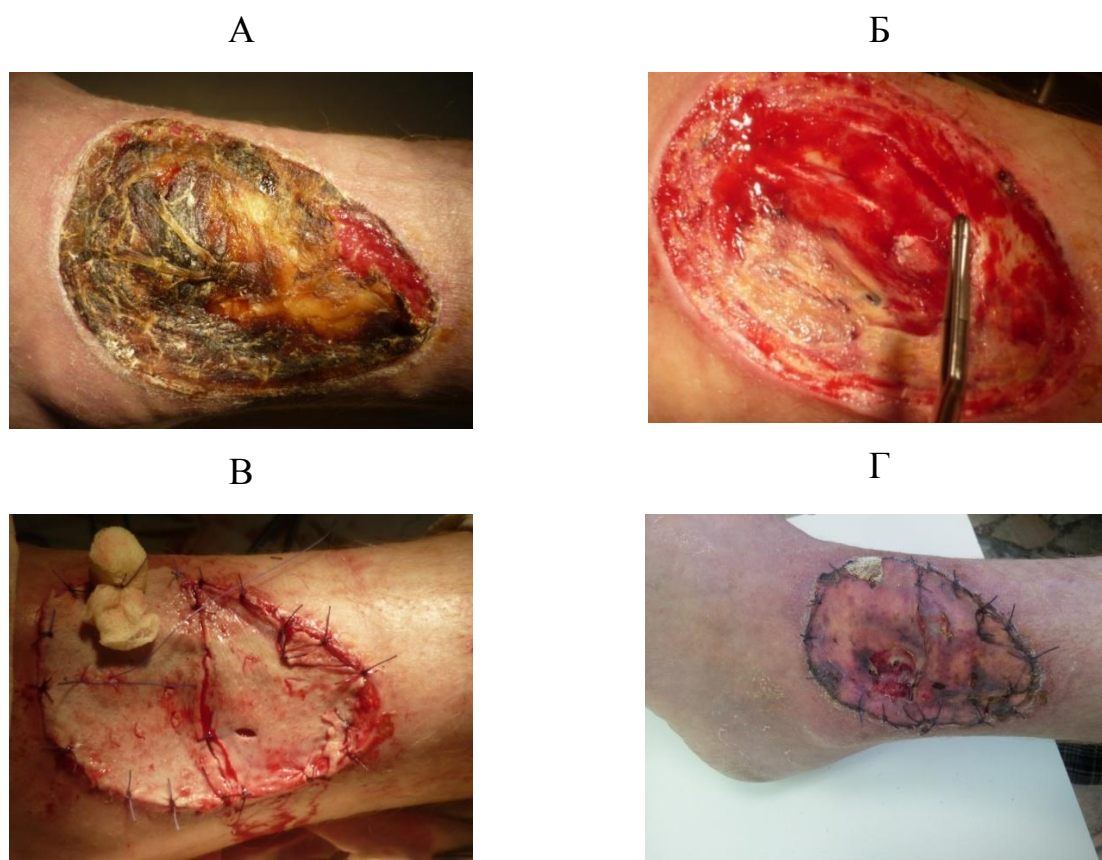


Рисунок 6. Пациент Ч., 46 лет, история болезни №550/450: А – ожог III степени левой голени на площади 1% п.т.; Б – вид раны после обработки

гидрохирургической системой; В – после аутодермопластики расщепленным лоскутом; Г – вид раны на 7 сутки после аутодермопластики.

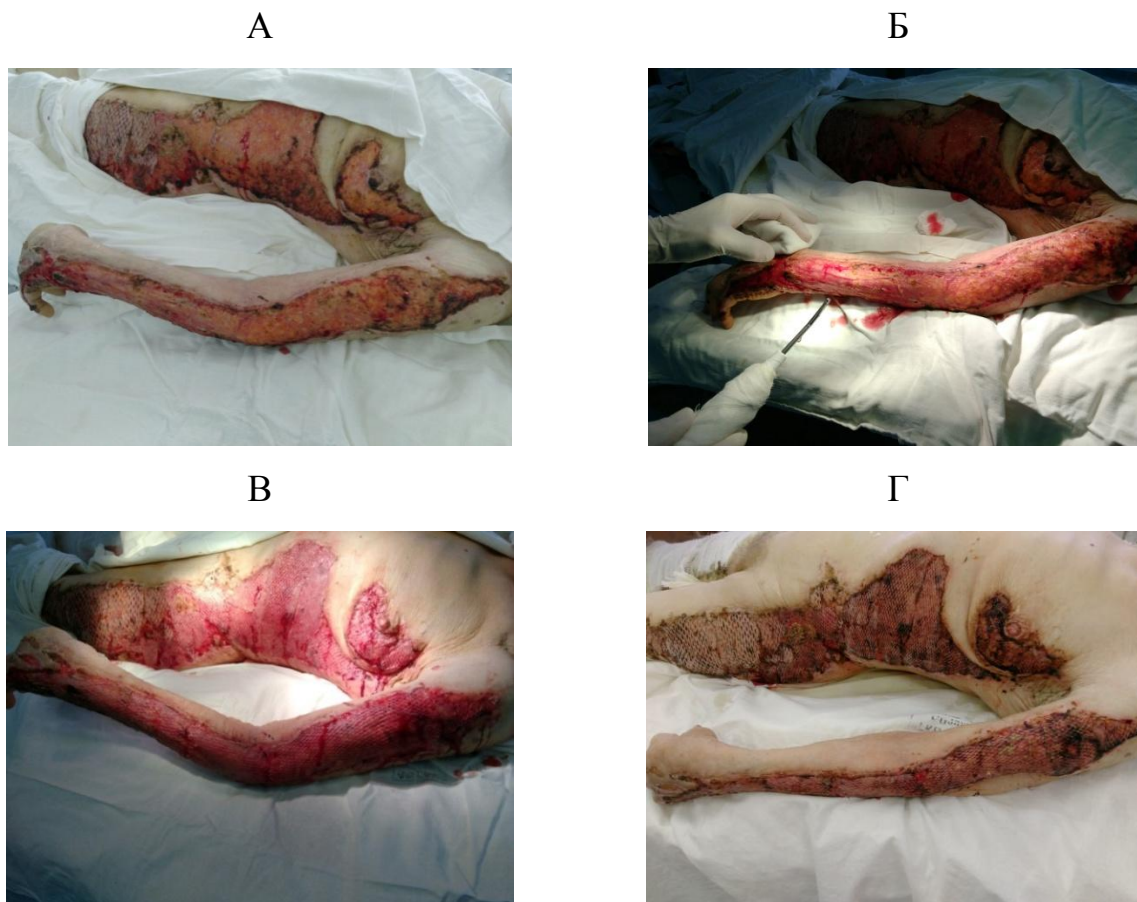


Рисунок 7. Больная К., 87 лет, история болезни 234/187: А – ожог пламенем III степени левого плеча, туловища, левого бедра на площади 12% п.т.; Б – обработка раны гидрохирургической системой; В – аутодермопластика расщепленным перфорированным свободным лоскутом; Г – вид раны на 7 сутки после аутодермопластики.

Таким образом, при применении гидрохирургической обработки гранулирующих ран с одномоментной аутодермопластикой и использовании в послеоперационном периоде повязок с раствором «Пронтосан®» были получены следующие данные: гидрохирургическая обработка проводилась на  $22,2 \pm 2,6$  сутки после травмы и  $11,5 \pm 1,6$  день после поступления в специализированное отделение. Восстановление кожного покрова происходило на  $15,6 \pm 3$  сутки после проведения первой операции. Продолжительность стационарного лечения составила в среднем  $27,2 \pm 3,5$  суток. Микробная обсемененность значительно снижается после гидрохирургической обработки гранулирующих ран.



Использование в послеоперационном периоде повязок, пропитанных раствором «Пронтосана®», препятствует разрастанию микрофлоры.

### **3.3. Эффективность гидрохирургической обработки гранулирующих ожоговых ран с использованием в послеоперационном периоде раствора «Пронтосан®»**

Для оценки эффективности гидрохирургической обработки с использованием в послеоперационном периоде «Пронтосана®» проведено сравнительное изучение результатов аутодермопластики с предшествующим гидрохирургическим лечением и без него.

Таблица 18

**Средняя площадь аутодермопластики  
в зависимости от метода хирургического лечения**

Площадь глубоких ожогов, %	Средняя площадь аутодермопластики, %	
	ГХОГР	ТХЛ
До 10	3,8±1,3	3,9±1,3
10-20	7,1±1,3*	6,3±1,4
Итого	4,2±1,5	3,5±1,8*

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

При сравнении результатов в двух группах площадь аутодермопластики была практически одинакова (Таблица 18), хотя разница оказалась статистически недостоверна. В группе с применением гидрохирургического метода средняя площадь аутодермопластики была на 1% больше и показана статистическая достоверность.

В группе с гидрохирургической обработкой эпителизация всех ожоговых ран за одну аутодермопластику была достигнута у 60 (88,2%), а при традиционном хирургическом лечении у 58 (81,6%) пациентов. Остальным пострадавшим проводились оперативные вмешательства в несколько этапов. В группе с гидрохирургической обработкой поверхностных слоёв грануляций у 8 (11,8%) пациентов выполнено по 2 операции. В группе с традиционным лечением

из 18 пациентов с повторными вмешательствами у 10 человек (14%) аутодермопластика осуществлялась в 2 этапа, у 7 (5,6%) – в 3 этапа, а одному пострадавшему потребовалось четыре операции для полного восстановления утраченных кожных покровов.

При сравнении результатов в группах с различными методами хирургического лечения было отмечено, что при гидрохирургической обработке у пациентов с ограниченными глубокими ожогами оперативное лечение с момента травмы начиналось раньше в среднем на 6 дней (Таблица 19).

Таблица 19

**Средний срок выполнения оперативного лечения с момента травмы в зависимости от метода хирургического лечения ожоговых ран**

Площадь глубоких ожогов, %	Средний срок выполнения оперативного лечения с момента травмы, сутки	
	ГХОГР	ТХЛ
До 10	21,9±2,6*	27,3±5,3
11-20	24,4±1,5	23,8±4,5
Итого	22,2±2,6	26,7±5,7*

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

При глубоких ожогах до 20% п.т. – разница была незначительной и статистически недостоверной. В группе с использованием гидрохирургического инструмента более раннее проведение оперативного лечения связано с тем, что не дожидались созревания грануляционной ткани.

Как видно из представленных в таблице данных (Таблица 20), средний срок до оперативного вмешательства от момента поступления в группе с гидрохирургическим иссечением грануляций составил 11,5±1,6 суток, что на десять суток меньше по сравнению с группой, в которой выполнялось традиционное хирургическое лечение, и предоперационная подготовка занимала 21,2±4,7 день. Разница была статистически достоверной.

Следует отметить уменьшение разницы между показателями с увеличением площади глубокого ожога. Так, в подгруппе с ограниченными ожогами III

степени при гидрохирургическом лечении предоперационная подготовка от времени поступления в стационар была меньше на десять суток в сравнении с традиционным лечением, разница была статистически достоверной. Статистически достоверной оказалась разница и в подгруппе с глубокими ожогами более 11% п.т., которая составила семь дней. Это позволило сделать вывод о том, что подготовка к оперативному лечению требует подготовленности не только ран, но и самого пациента с обширными глубокими ожогами.

Таблица 20

**Средний срок выполнения оперативного лечения с момента поступления в зависимости от метода хирургического лечения ожоговых ран**

Площадь глубоких ожогов, %	Средний срок выполнения оперативного лечения с момента поступления, сутки	
	ГХОГР	ТХЛ
До 10	11,4±1,8*	21,4±4,4
11-20	12,9±0,7*	19,8±7,1
Итого	11,5±1,6	21,2±4,7*

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

Средний срок восстановления кожного покрова после оперативного лечения при глубоких ожогах менее 10% п.т. с использованием гидрохирургии был меньше на двое суток, в сравнении с аналогичными подгруппами, где было традиционное хирургическое лечение (Таблица 21). У больных с глубокими ожогами от 11 до 20% п.т. при гидрохирургическом лечении средний срок восстановления кожного покрова после оперативного лечения был меньше, чем у пациентов с традиционным лечением. Статистической достоверности при сравнении совокупных данных, полученных по результатам данных групп с различными методами хирургического лечения, выявлено не было.

**Средние сроки восстановления кожного покрова после операции  
в зависимости от метода хирургического лечения ожоговых ран**

Площадь глубоких ожогов, %	Средний срок восстановления кожного покрова после операции, сутки	
	ГХОГР	ТХЛ
До 10	13,9±0,9	15,7±1,4
11-20	26,5±1,9*	27,8±2,8
Итого	15,6±3	16,8±2,6

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

Средний срок продолжительности стационарного лечения в группе с гидрохирургической обработкой грануляций с последующей одномоментной аутодермопластикой был меньше на двадцать суток в сравнении с группой больных, которым проводилось традиционное хирургическое лечение (Таблица 22).

**Средние сроки продолжительности стационарного лечения  
в зависимости от метода хирургического лечения**

Площадь глубоких ожогов, %	Средний срок восстановления кожного покрова после операции, сутки	
	ГХОГР	ТХЛ
До 10	25,5±1,9	45,8±9,1*
11-20	39,9±1,8	59,3±4,4
Итого	27,2±3,5	47±9,6*

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

Показатели осложнений хирургического лечения, в виде лизиса трансплантатов после аутодермопластического закрытия ран, являются информативным методом при оценке эффективности проведённого оперативного лечения (Таблица 23). Применение комбинированного подхода с использованием

гидрохирургического инструмента и антисептика позволило достоверно снизить частоту лизиса пересаженных аутодермотрансплантатов с 20,2% до 6,5% ( $p < 0,05$ ).

Бактериальная обсемененность перед операцией гидрохирургической обработки составляла  $2,17E+02 \pm 1,43E+02$  КОЕ/мл, тогда как при традиционном лечении уровень микроорганизмов перед операцией был немного выше  $4,46E+04 \pm 1,60E+05$  КОЕ/мл. На 5 сутки после аутодермопластики в группе, где на аутодермотрансплантаты использовался раствор «Пронтосана®», бактериального роста не наблюдалось. В контрольной группе, где применялся раствор хлоргексидина, отмечена тенденция к повышению уровня микробной контаминации.

Таблица 23

**Частота лизиса аутодермотрансплантатов в зависимости от метода хирургического лечения**

Площадь глубоких ожогов, %	Частота лизиса аутодермотрансплантатов, %	
	ГХОГР	ТХЛ
До 10	3,3*	7,8
11-20	3,9	12,3
Итого	6,5*	20,2

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

Мы проанализировали результаты хирургического лечения в группах в зависимости от сроков его проведения после получения травмы при ожогах III степени до 10% п.т. (Таблица 24). В группе с гидрохирургическим лечением отмечено увеличение случаев лизиса, если оперативное лечение проводилось до двадцатых суток после ожоговой травмы, особенно при госпитализации в ожоговый стационар в первые семь суток после получения ожога, тогда как в группе с традиционным лечением этот показатель оказался ниже. Если процедура гидрохирургической обработки выполнялась на двадцатый-тридцатый день после получения ожога, то вероятность лизиса аутодермотрансплантатов снижалась с 2,6% до 1,3% (Таблица 24). Восстановление целостности кожного покрова также шло быстрее, снижалось количество операций на одного пациента, когда

грануляционная ткань не отвечала клиническим критериям готовности ран к аутодермопластике, а также при высокой микробной контаминации. В группе с традиционным лечением наоборот отмечается увеличение частоты лизиса трансплантатов и соответственно рост числа операций на одного пациента. Применение гидрохирургического метода позднее тридцатых суток после получения травмы приводило к уменьшению сроков эпителизации кожного покрова и уменьшению лизиса аутодермотрансплантатов до 0%.

Таблица 24

**Сравнение эффективности различных методов оперативного лечения  
в зависимости от сроков оперативного лечения после травмы при глубоких  
ожогах до 10% п.т.**

Критерии	Сроки оперативного лечения после травмы					
	До 20 суток		20-30 суток		Более 30 суток	
	ГХОГР	ТХЛ	ГХОГР	ТХЛ	ГХОГР	ТХЛ
Срок проведения операции (в сутках после травмы)	17,8±0,9	17±1,5	23,4±1,8*	26,2±2,4	31±0,6*	36,3±3,4
Восстановление кожного покрова (в сутках после операции)	14±0,9	15,8±1,2	15,1±2,5	15,9±1,7	13±0,4	15,6±1,1
Количество операций на 1 больного	1	1	1,1±0,1*	1,3±0,4	1	1,04±0,08
Частота лизиса	2,6%*	0%	1,3%*	12,4%	0%*	6,8%

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, нецелесообразно применение гидрохирургической обработки в ранние сроки после ожоговой травмы, при ожогах III степени, при ограниченных поражениях до 10% п.т. Закрывание ожоговых ран позднее двадцатых суток со дня получения ожога с применением гидрохирургической системы является эффективной методикой, что проявляется в лучшем приживлении аутолоскутов.

При глубоких ожогах 11-20% п.т. в первой и второй группах сроки проведения оперативного лечения от момента травмы отличались незначительно (Таблица 25).

Таблица 25

**Сравнение эффективности различных методов оперативного лечения  
в зависимости от сроков оперативного лечения после травмы при глубоких  
ожогах 11-20% п.т.**

Критерии	Сроки оперативного лечения после травмы					
	До 20 суток		20-30 суток		Более 30 суток	
	ГХОГР	ТХЛ	ГХОГР	ТХЛ	ГХОГР	ТХЛ
Срок проведения операции (в сутках после травмы)	нет	нет	23,6±0,8	23,2±1,2	нет	44±11
Восстановление кожного покрова (в сутках после операции)	нет	нет	20,6±5,3*	28,7±1,7	нет	26±5
Количество операций на 1 больного	нет	нет	1,5±0,5*	2±0,5	нет	2,5±0,5
Частота лизиса	нет	нет	0%*	2,9%	нет	2,9%

Примечание: \* – достоверность статистических различий между показателями ( $p < 0,05$ ).

Более быстрое восстановление кожного покрова наблюдалось, если оперативное лечение выполнялось на двадцатый-тридцатый день после получения ожога, также отмечена тенденция к снижению числа лизиса аутодермотрансплантатов и пропорциональному снижению количества операций в группе с гидрохирургическим лечением, а также при высокой бактериальной обсемененности ожоговых ран. Наиболее это выражено у пациентов при позднем поступлении в ожоговое отделение.

Гидрохирургическая обработка гранулирующих ожоговых ран являлась эффективной процедурой для лечения ожогов III степени площадью 11-20% п.т., когда проводится на 20-30 сутки с момента получения ожога. В случае

грануляций, отвечающих клиническим критериям готовности, гидрохирургическое иссечение на 20-30 сутки после получения ожоговой травмы не показано. Если грануляционная ткань является патологической с большим количеством фибрина, а микробная обсемененность превышает  $10^5$  КОЕ/мл, показана гидрохирургическая обработка грануляций с одномоментной аутодермопластикой и использованием в послеоперационном периоде раствора «Пронтосан®». Данный метод хирургического лечения является более эффективным в настоящий период, что позволяет сократить частоту осложнений в виде лизиса кожных трансплантатов, а также снижает число повторных операций. Совокупность свойств такого метода лечения улучшает приживляемость трансплантатов, воздействуя на восприимчивость раневой поверхности, что отражается и на результатах проведенной аутодермопластики.

Гидрохирургическая обработка гранулирующих ожоговых ран с последующей аутодермопластикой позволяет сократить сроки предоперационной подготовки и произвести оперативное лечение в более ранние сроки, чем при традиционном ведении ожоговой раны, где кожной пластике предшествует длительная подготовка с целью получения клинически готовых к пластическому закрытию ран. Это отражается и на продолжительности стационарного лечения. Наилучшие результаты у пациентов с глубокими ожогами до 10% п.т. были получены в группе, где использовалось комплексное лечение. Но традиционное лечение оказалось наиболее эффективным при выполнении в первые двадцать суток после получения ожоговой травмы, а также, когда грануляции отвечают клиническим критериям готовности к аутодермопластике, на двадцатые-тридцатые сутки. Гидрохирургическая обработка грануляционной ткани с одномоментным аутопластическим закрытием и использованием в послеоперационном периоде антисептика «Пронтосан®» рекомендуется использовать, когда операция выполняется позднее тридцатых суток после получения ожоговой травмы, а также на двадцатые-тридцатые сутки в случае, когда грануляции не отвечают клиническим критериям готовности к аутодермопластике.



Во время гидрохирургической обработки удаляется поверхностный слой грануляционной ткани, соответственно снижается бактериальная обсемененность, что выражается в уменьшении лизиса кожных трансплантатов. Перед проведением аутодермопластики необходимо учитывать микробную обсемененность ран. Если бактериальная обсемененность составляет  $10^5$  КОЕ/мл и более, это является показанием к гидрохирургической обработке с использованием в послеоперационном периоде раствора «Пронтосана®». Низкая бактериальная инфицированность ожоговых ран является основанием для выполнения традиционного оперативного лечения гранулирующих ожоговых ран.

Таким образом, гидрохирургическая обработка гранулирующих ожоговых ран с последующей одномоментной аутодермопластикой и использованием в послеоперационном периоде раствора антисептика «Пронтосана®» является прогрессивным методом лечения пациентов с ожоговой травмой. Это является методом активного хирургического лечения, благодаря которому сокращается период подготовки ран к аутодермопластике, снижается продолжительность нахождения в стационаре, улучшается приживляемость кожных трансплантатов. Использование комбинированного метода лечения ожогов III степени площадью 11-20% п.т. позднее тридцатых суток после получения ожога приводит к уменьшению сроков восстановления целостности кожного покрова и снижению лизиса аутодермотрансплантатов до 0%, а также является эффективной методикой на 20-30 сутки после получения ожоговой травмы. Традиционное лечение следует применять в случаях, когда аутодермопластика выполняется в первые двадцать суток после получения ожога, а также на двадцатый-тридцатый день, когда гранулирующие раны отвечают клиническим критериям готовности к аутодермопластике.

Полученные в результате проведенного исследования данные позволили предложить алгоритм комбинированного хирургического лечения ожогов III степени с учетом площади ожогов, сроков, клинической готовности ран и их бактериальной обсемененности.

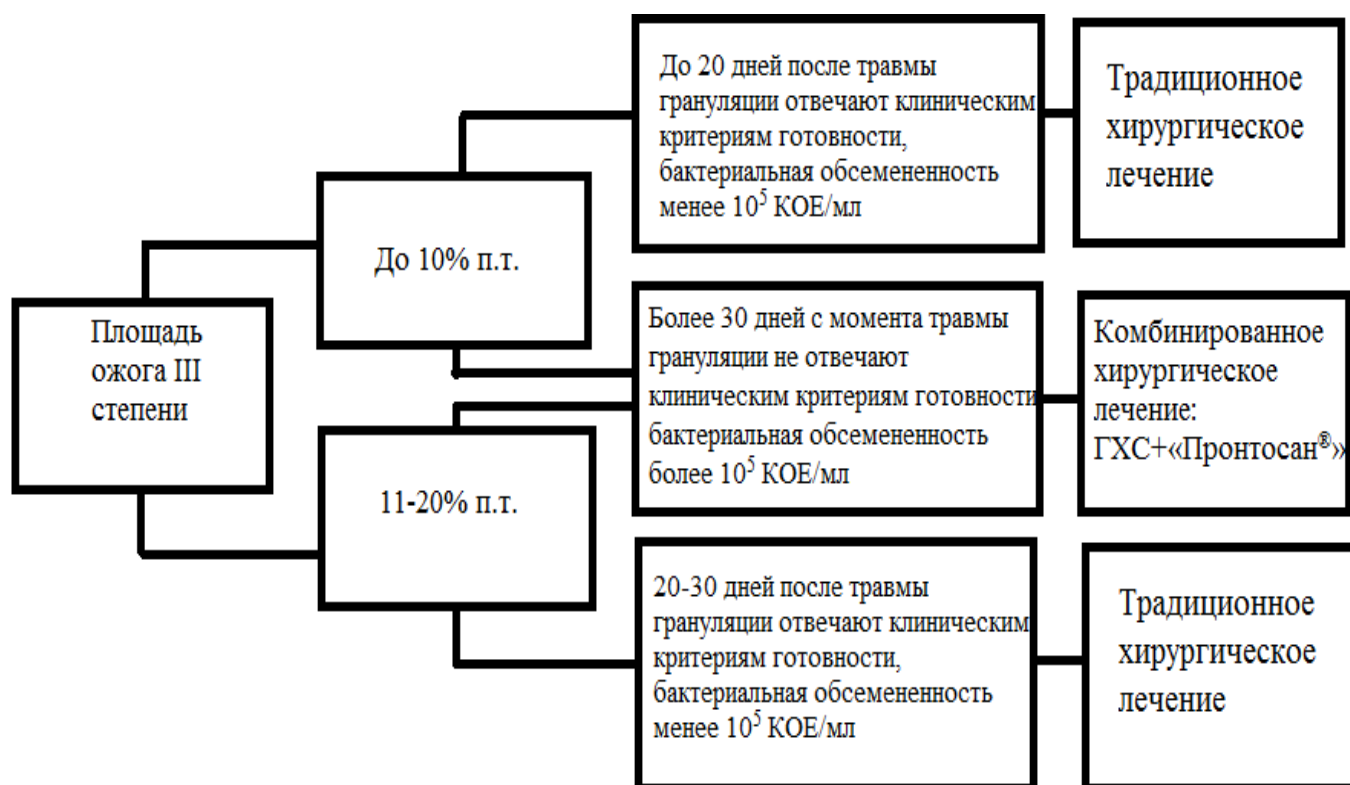


Рисунок 8. Алгоритм комбинированного хирургического лечения ожогов III степени.

## ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ ИНФИЦИРОВАНИЯ ОЖОГОВЫХ РАН

Особую значимость для пациентов с ожоговой травмой имеет проблема внутрибольничного инфицирования: до 75% всех смертельных случаев после термических ран вызвано инфекционными осложнениями. В ожоговых отделениях видовой спектр возбудителей инфекционных осложнений и их антибиотикочувствительность зависят от климатических и региональных особенностей, применяемых в отделениях антибактериальных препаратов, и могут существенно изменяться со временем (Oncul O., 2009). В связи с этим изучение структуры возбудителей раневой ожоговой инфекции, анализ устойчивости к антимикробным препаратам доминантных этиопатогенов и их генотипическая характеристика стали одной из задач настоящего исследования.

Исследование проведено в ожоговом отделении ГАУЗ ПК ГKB №21 г. Перми в 2011-12 гг. Всего обобщены результаты микробиологического анализа 208 проб биологического материала. От 190 пациентов (91,3%) было изолировано 270 бактериальных культур. Из них 38 человек находились на лечении по поводу ожогов I-II степени, 152 – III степени. Микробную колонизацию ран регистрировали на  $11 \pm 4,1$  и  $12 \pm 7,2$  день, соответственно ( $p=0,0004$ ). При этом спектр микрофлоры оказался весьма разнообразным: выделенные бактерии отнесены к 12 родам и 19 видам с сопоставимым представительством грамположительных (51,5%) и грамотрицательных таксонов (48,5%) (Таблица 26). Доминирующими видами оказались *S. aureus* и *P. aeruginosa* – их совокупная доля составила почти 40% от всех выделенных бактерий. Из грамположительных микроорганизмов часто выделяли и других представителей рода *Staphylococcus* – *S. epidermidis* и *S. haemolyticus*, а также *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*.

**Спектр микроорганизмов, изолированных из отделяемого ожоговых ран в  
2011-12 гг.**

Вид микроорганизма	Количество штаммов, n		Всего абс./%	Индекс встречаемости С, %
	Степень ожога			
	I-II	III		
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	39	49 /18,15	25,79
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	16	23/8,52	12,11
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2	17	19/7,04	10,00
<i>Streptococcus porcinus</i>	1	3	4/1,48	2,11
<i>Streptococcus milleri</i>	0	4	4/1,48	2,11
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	11	15/5,56	7,89
<i>Enterococcus faecium</i>	2	4	6/2,22	3,16
<i>Corynebacterium xerosis</i>	4	14	18/6,67	9,47
<i>Corynebacterium paurometabolum</i>	0	1	1/0,37	0,53
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	12	15/5,56	7,89
<i>Pantoea (ранее Enterobacter) agglomerans</i>	1	4	5/1,85	2,63
<i>Escherichia coli</i>	1	8	9/3,33	4,74
<i>Klebsiella spp.</i>	2	13	15/5,56	7,89
<i>Proteus mirabilis</i>	0	3	3/1,11	1,58
<i>Proteus vulgaris</i>	0	3	3/1,11	1,58
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	41	50/18,52	26,32
<i>Pseudomonas putida</i>	1	5	6/2,22	3,16
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6	18	24/8,89	12,63
<i>Neisseria elongata</i>	0	1	1/0,37	0,53
Всего	53	217	270/100,0	

Значимыми среди грамотрицательных бактерий были *A. baumannii*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter cloacae*. Удельный вес представителей остальных видов не превышал 5%. Существенных различий в видовом спектре возбудителей поверхностных и глубоких ожоговых ран не выявлено, тем не менее, при ожогах I-II степени грамположительные бактерии встречались чаще. В то же время, при глубоких повреждениях грамотрицательные микроорганизмы оказались этиопатогенами в 49,8%, тогда как при поверхностных ожогах – в 43,4%. Более выраженное видовое разнообразие возбудителей при термических травмах III степени может объясняться как большим количеством таких повреждений, так и более длительным пребыванием в стационаре больных с тяжелыми ожогами. Выработка эмпирических схем антибиотикотерапии в значительной степени ориентирована на микробиоту, преобладающую в ожоговых ранах при инфицировании. В этой связи был посчитан индекс встречаемости различных таксонов, формирующих раневую микрофлору. Два вида – *S. aureus* и *P. aeruginosa* имели показатель постоянства, превышающий 25%, *S. epidermidis* и *A. baumannii* – более 10%, все остальные таксоны отнесены к группе эпизодически встречающихся или случайных. При сравнении этого показателя в зависимости от тяжести поражения для доминирующих видов различий не установлено. Однако индекс встречаемости для *S. epidermidis* и *A. baumannii* был выше при поверхностных (18,4 против 10,5% и 15,8 против 11,8%, соответственно), а для *S. haemolyticus* и *Klebsiella* spp. – при глубоких повреждениях (5,3 против 11,2% и 5,3 против 8,6%, соответственно).

Для более полной характеристики микробиоценоза ожоговой раны выполнен анализ встречаемости моно- и полиэтиологических инфекционных осложнений. Оказалось, что в монокультуре бактерии высевали в 2 раза чаще, чем в составе ассоциаций, у 66,8 и 33,2% больных соответственно, при этом близкое соотношение сохранялось как при поверхностных, так и при глубоких ожогах. Из 63 случаев микстинфекций в 82,5% выявлены двухкомпонентные ассоциации, как единичные находки отмечены 3-х и 4-х компонентные варианты.

Для наиболее значимых этиопатогенов при инфицировании ожоговых ран *S. aureus* и *P. aeruginosa* не выявлено достоверных отличий по частоте встречаемости в моно- или смешанной культуре, тогда как *A. baumannii* достоверно чаще высевали в составе ассоциаций ( $\varphi^* = 2,667$ ;  $p=0,01$ ) (Таблица 27). Преобладающее большинство ассоциаций *S. aureus* были с *Enterococcus* spp., а ассоциации *P. aeruginosa* – с другим неферментирующим микроорганизмом *A. baumannii*.

Таблица 27

**Встречаемость наиболее значимых видов бактерий, выделенных в монокультуре или в составе ассоциаций в 2011-12 гг.**

Микроорганизм (n)		Количество штаммов, n				
		Монокультура	Ассоциации			
			2-х	3-х	4-х	всего
<i>S. aureus</i> (49)	I-II	8	2	-	-	2
	III	21	16	2	-	18
<i>P. aeruginosa</i> (50)	I-II	7	2	-	-	2
	III	23	12	6	-	18
<i>A. baumannii</i> (24)	I-II	3	1	1	1	3
	III	7	9	2	-	11

Проанализирована динамика выделения 3-х видов бактерий в течение 12-и месяцев 2012 г. Необходимо отметить, что штаммы *S. aureus* (35) и *P. aeruginosa* (30) изолировали из раневого отделяемого в течение всего года с заметным постоянством, тогда как *A. baumannii* (13) – спорадически (Рисунок 9).

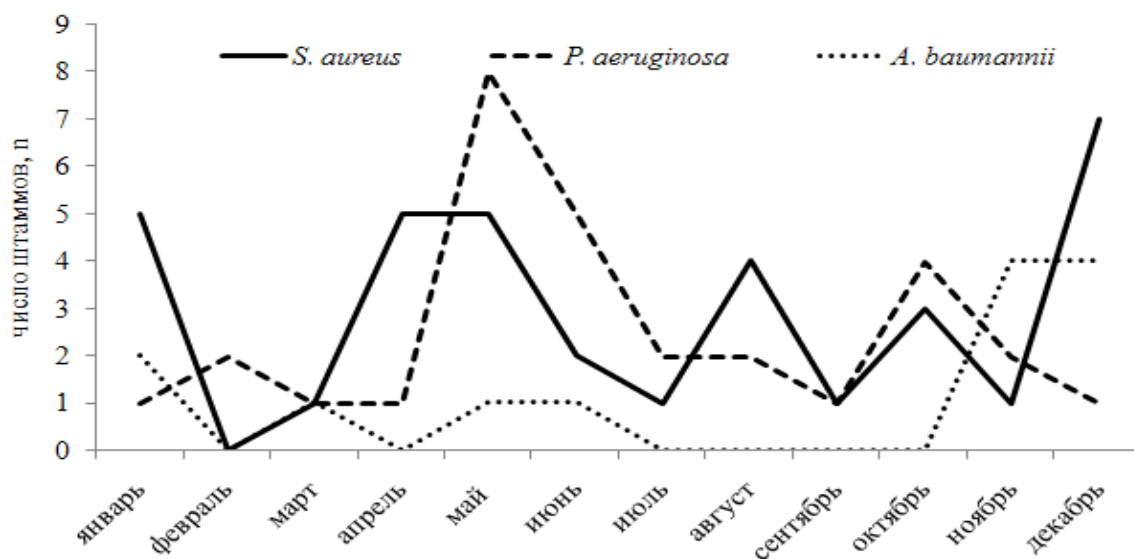


Рисунок 9. Встречаемость бактерий *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* в раневом отделяемом пациентов за 2012 г.

Известно, что в процессе лечения ожоговых больных один и тот же микроорганизм может неоднократно высеиваться из биологического материала, а зачастую происходит смена или присоединение другого возбудителя, обусловленное длительностью пребывания в стационаре, инвазивными диагностическими и лечебными процедурами, когда возможна вторичная контаминация, в том числе и госпитальными экovarями. Средняя продолжительность госпитализации больного при ожогах I-II и III степени составила  $17,4 \pm 4,8$  и  $38,3 \pm 14,6$ , соответственно ( $p=1,03$ ). Однократная смена возбудителя выявлена у 14-и, двукратная – у 5-и, трехкратная – у одного больного. Наиболее часто при повторных посевах выделяли штаммы *P. aeruginosa* (54,2%) и *S. aureus* (37,5%). Важно подчеркнуть, что микробная контаминация ран при летальных исходах была зарегистрирована лишь в 16,7% случаев. Генерализация инфекции за счет ведущих раневых этиопатогенов (*P. aeruginosa* и *S. aureus*) не выявлена ни в одном случае, в то же время панрезистентные штаммы *A. baumannii* были изолированы из крови двух умерших больных. Очевидно, что раневой инфекционный процесс не является основной причиной смерти при ожоговой болезни, но в ряде случаев можно говорить об атрибутивной летальности.

Проведен анализ чувствительности ведущих возбудителей ожоговых раневых инфекций к антибактериальным препаратам (Рисунок 10).

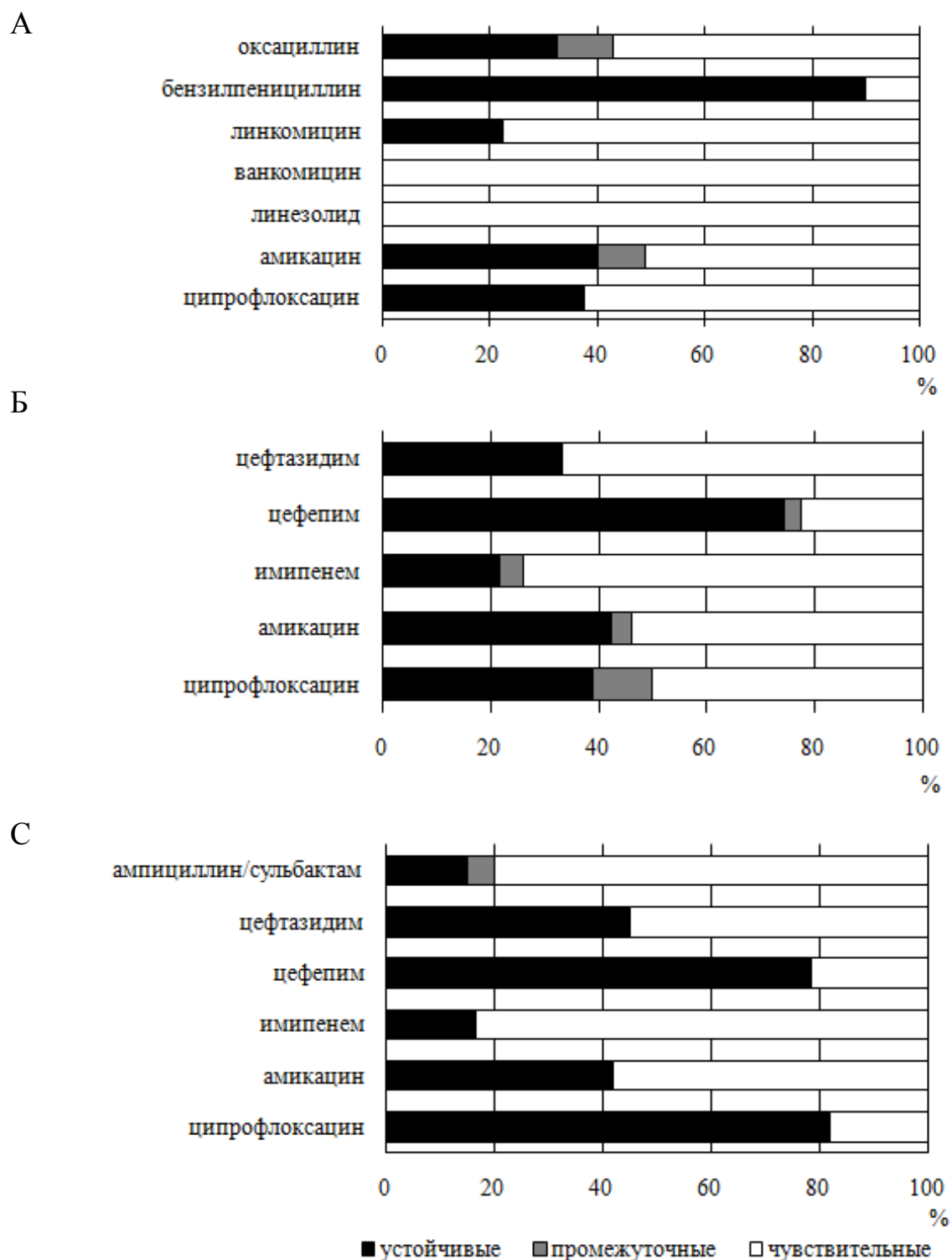


Рисунок 10. Распределение штаммов по чувствительности к анализируемому спектру антибактериальных препаратов: А – *S. aureus*, Б – *P. aeruginosa*, С – *A. baumannii*.



Доля штаммов *S. aureus*, устойчивых к оксациллину (метициллину – MRSA) составила 32,6%. К последнему были чувствительны все выделенные штаммы золотистого стафилококка. Бета-лактамы были не эффективны в отношении более половины изолятов *P. aeruginosa*, исключение составил цефтазидим, к которому сохраняли чувствительность 66% культур. Устойчивость синегнойной палочки к амикацину и цiproфлоксацину оказалась на уровне 40%. Наиболее активным в отношении данного вида бактерий остается имипенем. Большая часть выделенных в ожоговом отделении штаммов *A. baumannii* была полирезистентная. Распределение культур *A. baumannii* по профилю устойчивости к основным регламентированным препаратам совпало с таковым для *P. aeruginosa*, но они оказались не чувствительными к бета-лактамам и цiproфлоксацину в большем проценте случаев. Нужно отметить, что у представителей этих двух таксонов не обнаружено устойчивости к полимиксину. Оценка спектров антибиотикоустойчивости неферментирующих бактерий в динамике позволила предположить, что в ожоговом отделении могут циркулировать госпитальные штаммы *P. aeruginosa* и *A. baumannii*.

Молекулярный скрининг *P. aeruginosa* на присутствие VIM-2-металло-бета-лактамаз, ферментов молекулярного класса В, обеспечивающих устойчивость к бета-лактамам, и интегронов I класса не выявил их ни у одного изолята. В геноме штаммов гены *exoU* также не обнаружены, тогда как *exoS* встречался в 68% случаев (у 34 из 50 штаммов). Таким образом, отсутствие циркуляции в отделении клона *P. aeruginosa* ST235 (*bla*<sub>VIM2</sub>, *exoU*), распространение которого выявлено в ОРИТ и ожоговых отделениях ЛПУ на территории России (Эйдельштейн М.В., 2012), характеризует эпидемиологическую ситуацию как благополучную.

Ферменты молекулярного класса D (ОХА-лактамазы) впервые обнаружены у *P. aeruginosa*, и в ряде работ отмечается проявление их высокой активности именно у данного возбудителя (Hall L.M.C. et al., 1993). Специфическая амплификация с праймерами ABD1/ABD4 к ферменту ОХА-10 и его производным была выявлена у 5 (10%) изолятов *P. aeruginosa* (Рисунок 11), то

есть у некоторых исследованных штаммов, фенотипически устойчивых к одному или ряду бета-лактамных антибиотиков, эта устойчивость была связана, в том числе, и с продукцией оксациллиназ.

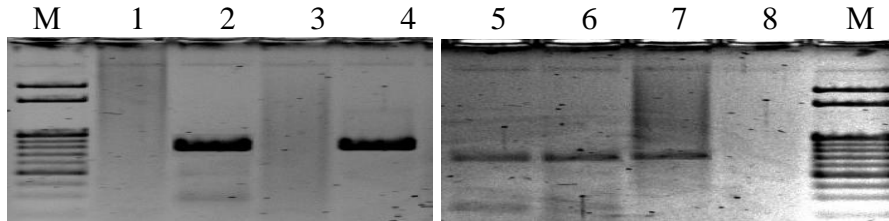


Рисунок 11. Пример электрофореграмм продуктов амплификации с праймерами ABD1/ABD4: М – маркер молекулярных масс 100 bp+1,5+2,0 Кб; 1-8 – клинические изоляты *P. aeruginosa*.

С целью выявления генетического разнообразия изолятов, было проведено генотипирование *S. aureus* (n=35), *P. aeruginosa* (n=30) и *A. baumannii* (n=13) (Рисунок 12).

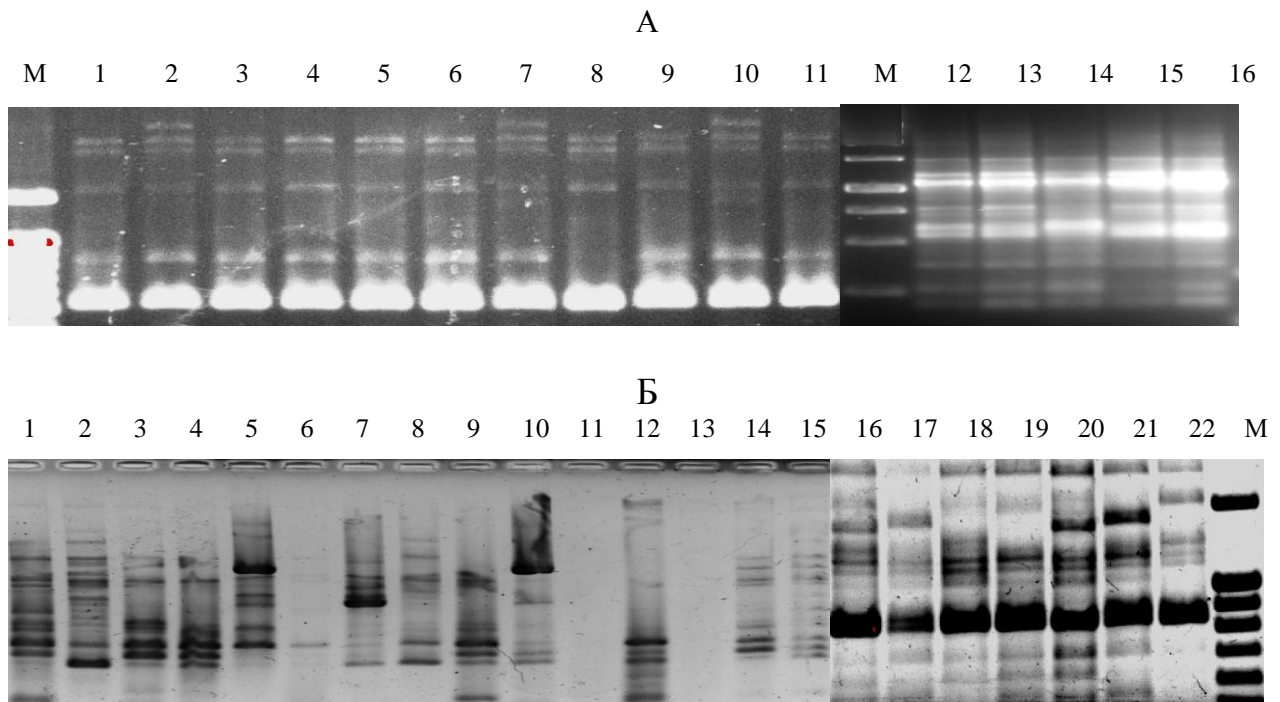


Рисунок 12. Пример электрофореграмм продуктов амплификации с праймером M13 клинических изолятов *P. aeruginosa* (А) и *S. aureus* (Б).

В результате анализа диаграмм/филогенетических дендрограмм, подтверждено наше предположение о циркуляции госпитальных штаммов в

ожоговом отделении, сделанное на основе фенотипических характеристик культур.

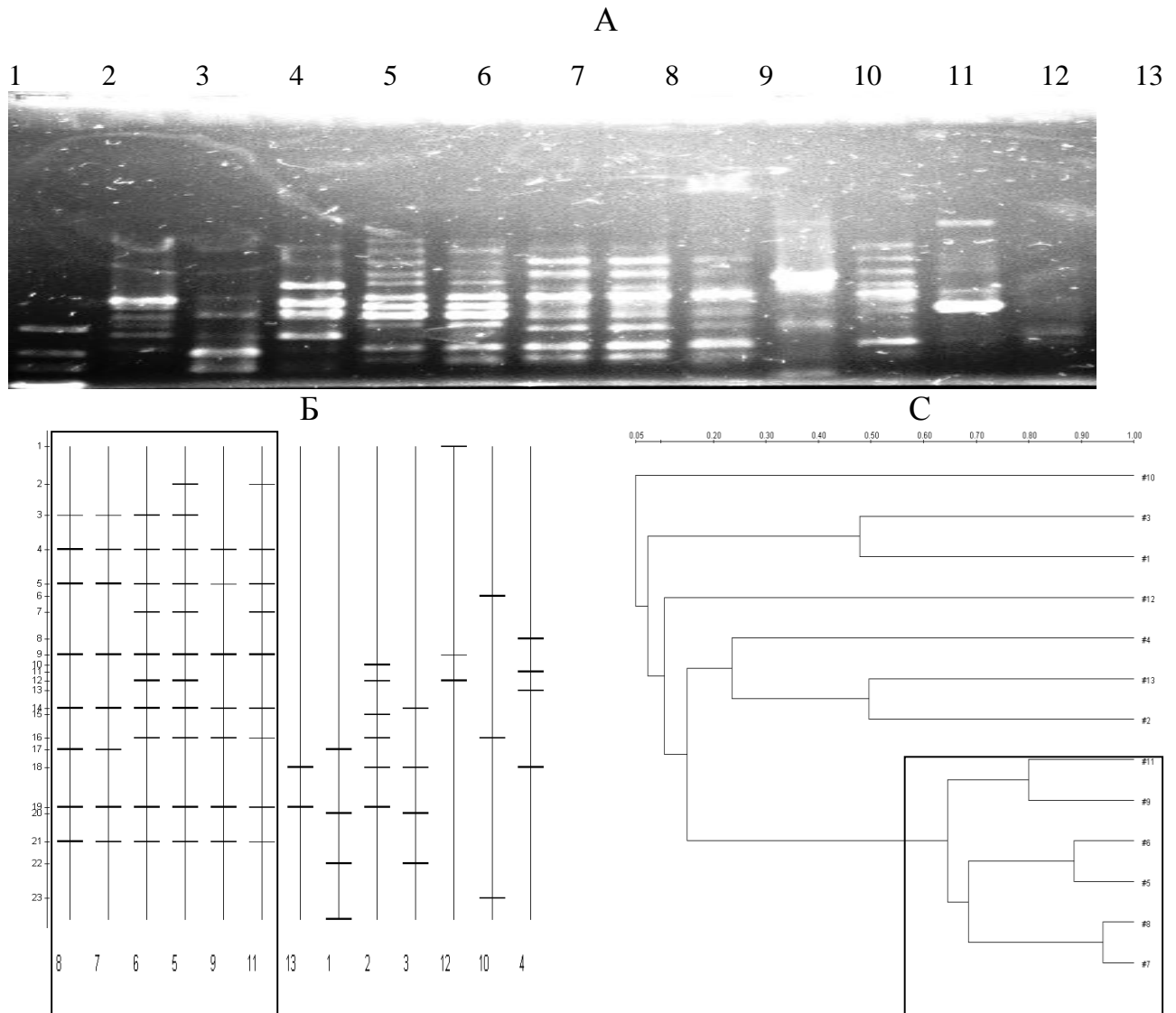


Рисунок 13. Пример анализа продуктов амплификации с праймером M13 клинических изолятов *A. baumannii*: А – электрофореграмма; Б – диаграмма; С – дендрограмма филогенетического родства, построенная на основе метода невзвешенного попарного арифметического среднего UPGMA (Unweighted pair group method).

Идентичные и/или схожие геномоварианты были обнаружены для всех исследованных видов. У *P. aeruginosa* определены две клональные группы – одиннадцать и пять изолятов (Рисунок 12-А), у *A. baumannii* шесть (изоляты №5, 6, 7, 8, 9, 11) из тринадцати штаммов были близкородственными (Рисунок 13). У

*S. aureus* выявлено больше всего отличных геномовариантов, но семь культур имели сходный гер-генотип (Рисунок 12-Б).

## **ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ХЛОРГЕКСИДИНА И «ПРОНТОСАНА<sup>®</sup>» НА МОНОВИДОВЫЕ И СМЕШАННЫЕ БИОПЛЕНКИ, ОБРАЗОВАННЫЕ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

Согласно современным представлениям одним из основных способов выживания бактерий во внешней среде и в организме хозяина является их способность к формированию многоклеточных структур – биопленок (Романова Ю.М. и соавт., 2011). Эти данные заставили по-новому рассматривать роль местно применяемых антисептиков, а также стимулировали разработку и использование в клинике комбинированных композиций, включающих как бактерицидные вещества, так и компоненты, разрушающие защитный матрикс биопленки. *S. aureus* и *P. aeruginosa* являются одними из наиболее значимых возбудителей ожоговых инфекций, поэтому представляется важным оценить влияние хлоргексидина и «Пронтосана<sup>®</sup>» – двух антисептиков, широко используемых в хирургической практике, на биопленки, сформированные данными бактериями.

### **5.1. Изменение биомассы биопленки и жизнеспособности клеток клинических штаммов *S. aureus* и *P. aeruginosa* при воздействии хлоргексидина и «Пронтосана<sup>®</sup>»**

Результаты исследования влияния антисептиков на биопленку, сформированную клиническими изолятами *S. aureus* (n=39) на гидрофобной поверхности в лунках полистиролового планшета, показали, что биомасса 20-часовой биопленки уменьшалась после воздействия «Пронтосана<sup>®</sup>» у 29 штаммов (72,5%), а хлоргексидина – только у 13 (32,5%) культур. Интересно отметить, что в 9 (23%) случаях после воздействия хлоргексидина данный показатель увеличивался, но не достоверно. Показатель, характеризующий величину/массивность биопленки, в контроле варьировал в пределах от

0,083±0,014 до 0,410±0,068 ед. ОП<sub>580</sub>, Ме (Q1-Q3) составили 0,201 (0,112-0,296) ед. ОП<sub>580</sub>, тогда как после воздействия «Пронтосана<sup>®</sup>» – 0,154 (0,095-0,287), а хлоргексидина – 0,165 (0,118-0,268) ед. ОП<sub>580</sub> (Рисунок 14). Достоверность отличий в группах показана только для пары контроль/«Пронтосан<sup>®</sup>» (*t*-test: *p*=0,000128). При сравнении массивности биопленки, образованной бактериями *S. aureus* АТСС, оказалось, что этот показатель статистически значимо снижался только при воздействии «Пронтосана<sup>®</sup>».

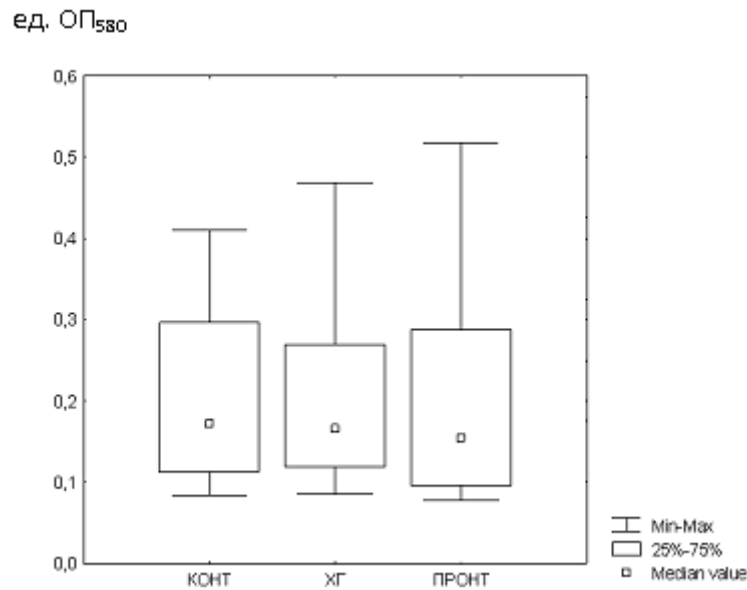


Рисунок 14. Диапазон показателя массивности биопленки нозокомиальных штаммов *S. aureus* без действия антисептиков (К), после 1-часового воздействия хлоргексидина (ХГ) и «Пронтосана<sup>®</sup>» (ПР).

Установлено, что показатель, характеризующий величину/массивность 24-часовой биопленки клинических изолятов *P. aeruginosa* (n=12), в контроле варьировал в пределах от 0,093±0,013 до 0,430±0,011 ед. ОП<sub>580</sub>, Ме (Q1-Q3) составили 0,148 (0,128-0,213) ед. ОП<sub>580</sub> (табл. 28). После воздействия хлоргексидина и «Пронтосана<sup>®</sup>» медиана (квартили) составили 0,187 (0,166-0,205) и 0,071 (0,067-0,093) ед. ОП, соответственно. Достоверность отличий в группах показана для пары контроль/«Пронтосан<sup>®</sup>» (*t*-tes: *p*=0,00437) и хлоргексидин/«Пронтосан<sup>®</sup>» (*t*-test: *p*=0,00054). Увеличение массивности биопленки *P. aeruginosa* после экспозиции с хлоргексидином отмечено и для данного вида бактерий, но эффект также был не достоверен (Таблица 28).

**Влияние хлоргексидина и «Пронтосана®» на биомассу 24-часовой биопленки клинических изолятов *P. aeruginosa***

Штамм	Шифр	Биомасса биопленки, ОП <sub>580</sub>		
		Контроль	Хлоргексидин	«Пронтосан®»
1	620	0,093±0,003	0,189±0,09	0,068±0,005* <sup>α</sup>
2	520	0,133±0,01	0,194±0,04	0,105±0,07
3	378	0,264±0,034	0,231±0,05	0,098±0,007* <sup>α</sup>
4	666	0,093±0,01	0,147±0,05	0,067±0,01 <sup>α</sup>
5	696	0,368±0,02	0,166±0,03*	0,081±0,005* <sup>α</sup>
6	587	0,155±0,02	0,167±0,05	0,065±0,003* <sup>α</sup>
7	873	0,162±0,05	0,187±0,03	0,121±0,03 <sup>α</sup>
8	742	0,155±0,06	0,126±0,01*	0,064±0,002* <sup>α</sup>
9	901	0,430±0,03	0,470±0,08	0,072±0,006* <sup>α</sup>
10	264	0,142±0,08	0,188±0,12	0,070±0,04*
11	942	0,126±0,01	0,184±0,05	0,088±0,02* <sup>α</sup>
12	595	0,131±0,02	0,217±0,08	0,067±0,01* <sup>α</sup>

**Примечание:** без действия антисептиков – Контроль, после 1-часового воздействия хлоргексидина и «Пронтосана®». \* – различия статистически значимы по сравнению с контролем, <sup>α</sup> – различия статистически значимы по сравнению с хлоргексидином.

Предполагая, что действие антисептических препаратов, применяемых в хирургической практике, будет существенно отличаться при моновидовой и смешанной инфекциях, представлялось важным изучить влияние антисептиков на моновидовые и полимикробные биопленки, сформированные бактериями *P. aeruginosa* и *S. aureus*. Биомасса биопленки, образованной клиническими изолятами *P. aeruginosa* (n=12) и штаммом *S. aureus* ATCC®29213, была достоверно больше, чем при росте штаммов синегнойной палочки в моновидовом варианте (*t*-test: p=0,00028). Аналогичные данные показаны Шипицыной И.В. и

Осиповой Е.В. (2014), которые исследовали биопленкообразующую способность псевдомонад и стафилококков, выделенных из клинического материала в ассоциациях. Величина показателя полимикробной биопленки варьировала в пределах от  $0,186 \pm 0,067$  до  $0,667 \pm 0,089$  ед. ОП<sub>580</sub>, Ме (Q1-Q3) составили  $0,365$  ( $0,284-0,476$ ) ед. ОП<sub>580</sub> (Таблица 29).

Таблица 29

**Влияние хлоргексидина и «Пронтосана®» на биомассу 24-часовой смешанной биопленки, образованной клиническими изолятами *P. aeruginosa* и *S. aureus* ATCC®29213**

Штамм	Шифр	Биомасса биопленки, ОП <sub>580</sub>		
		Контроль	Хлоргексидин	«Пронтосан®»
1	620	$0,370 \pm 0,05$	$0,406 \pm 0,1$	$0,092 \pm 0,09^*$
2	520	$0,578 \pm 0,2$	$0,478 \pm 0,1$	$0,130 \pm 0,01^*$
3	378	$0,407 \pm 0,1$	$0,426 \pm 0,08$	$0,095 \pm 0,02^{* \alpha}$
4	666	$0,321 \pm 0,04$	$0,230 \pm 0,06^*$	$0,069 \pm 0,002^{* \alpha}$
5	696	$0,370 \pm 0,1$	$0,351 \pm 0,03$	$0,077 \pm 0,009^{* \alpha}$
6	587	$0,546 \pm 0,1$	$0,427 \pm 0,08$	$0,136 \pm 0,03^{* \alpha}$
7	873	$0,360 \pm 0,01$	$0,288 \pm 0,02$	$0,087 \pm 0,02^{* \alpha}$
8	742	$0,306 \pm 0,05$	$0,202 \pm 0,02^*$	$0,098 \pm 0,02^{* \alpha}$
9	901	$0,667 \pm 0,07$	$0,632 \pm 0,1$	$0,315 \pm 0,01^{\alpha}$
10	264	$0,186 \pm 0,04$	$0,165 \pm 0,04$	$0,072 \pm 0,01^*$
11	942	$0,236 \pm 0,02$	$0,217 \pm 0,02$	$0,070 \pm 0,009^{* \alpha}$
12	595	$0,262 \pm 0,01$	$0,283 \pm 0,07$	$0,078 \pm 0,01^{* \alpha}$

**Примечание:** без действия антисептиков – Контроль, после 1-часового воздействия хлоргексидина и «Пронтосана®». \* – различия статистически значимы по сравнению с контролем, <sup>α</sup> – различия статистически значимы по сравнению с хлоргексидином.

В нашем исследовании после воздействия хлоргексидина в 10-и случаях зафиксирована тенденция к снижению показателя массивности биопленки, тогда



как при экспозиции с «Пронтосаном<sup>®</sup>» во всех вариантах (100%) установлено статистически значимое снижение биомассы (Таблица 29). Тем не менее достоверность отличий в группах выявлена для всех пар – контроль/«Пронтосан<sup>®</sup>» ( $t$ -test:  $p=0,000001$ ), контроль/хлоргексидин ( $t$ -test:  $p=0,02045$ ), хлоргексидин/ «Пронтосан<sup>®</sup>» ( $t$ -test:  $p=0,000002$ ).

Выживаемость бактерий под влиянием антибиотиков/антисептиков определяет эффективность терапии при инфекционных осложнениях. При оценке жизнеспособности клеток в моновидовых биопленках, образованных *P. aeruginosa*, обнаружено, что число КОЕ в контроле варьировало от  $4,00E+05$  до  $3,27E+07$ , Ме (Q1-Q3) составили  $3,32E+06$  ( $7,33E+05$  -  $7,00E+06$ ). Интересным представляется факт, что не было обнаружено корреляции между массивностью биопленки *P. aeruginosa* (ед. ОП<sub>580</sub>) и количеством жизнеспособных клеток в ее составе ( $W$ -test:  $p=0,26549$ ). После экспозиции биопленок с хлоргексидином количество жизнеспособных клеток статистически значимо снизилось  $3,12E+04$  ( $4,00E+03$  -  $4,77E+05$ ) ( $W$ -test:  $p=0,01172$ ), а при воздействии «Пронтосана<sup>®</sup>» их не было выявлено ни в одном варианте.

Данные, полученные для смешанной биопленки, были сходными (Рисунок 15): хлоргексидин достоверно снижал число жизнеспособных клеток во всех вариантах, медиана составила  $1,40E+07$  для контроля и  $1,77E+03$  для антисептика ( $W$ -test:  $p=0,04312$ ), тогда как «Пронтосан<sup>®</sup>» полностью подавлял способность бактериальных клеток к росту. Несмотря на то, что количество клеток в исходной смешанной биопленке в большинстве вариантов было выше, чем в моновидовой, после воздействия хлоргексидина число КОЕ, напротив, составило  $1,77E+03$  для смешанной и  $3,12E+04$  для моновидовой, хотя разница оказалась статистически незначимой.

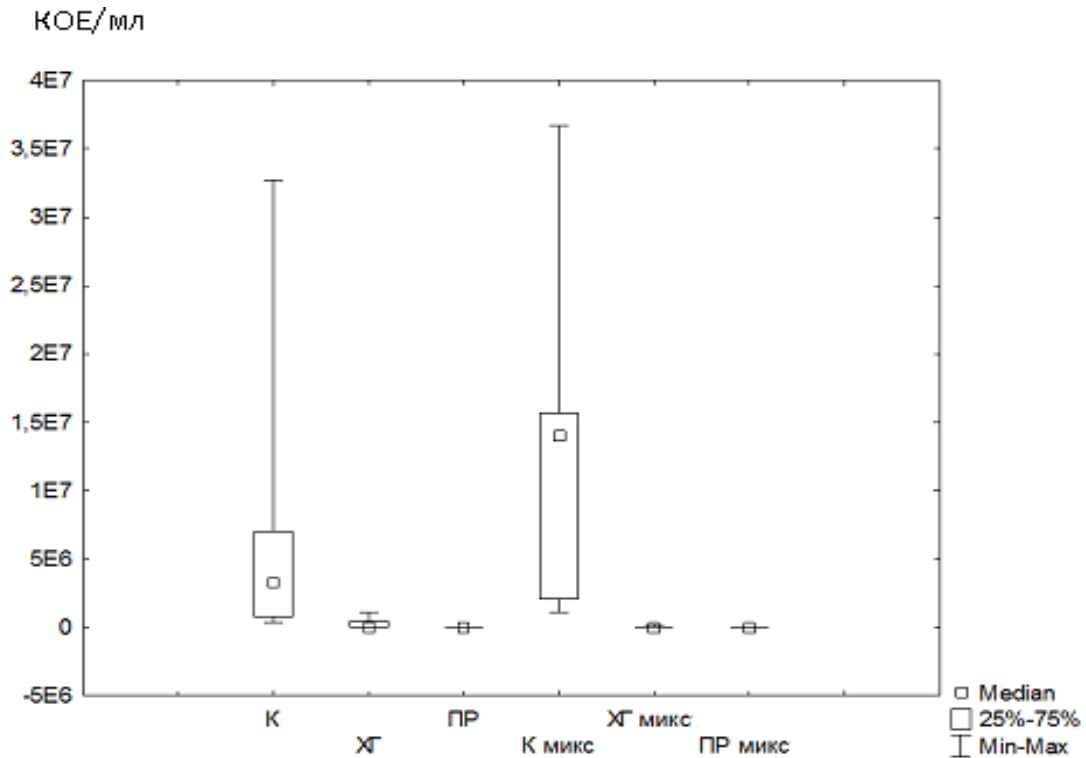


Рисунок 15. Влияние хлоргексидина (ХГ) и «Пронтосана<sup>®</sup>» (PP) на жизнеспособность клеток в моновидовой и смешанной биопленках, образованных клиническими изолятами *P. aeruginosa* и *S. aureus* ATCC<sup>®</sup>29213.

Таким образом, выявлено, что хлоргексидин, практически не влияя на биомассу псевдомонадных биопленок, оказывает разрушающее воздействие на биопленки, сформированные в смешанной культуре с референтным штаммом *S. aureus*. Влияние на стафилококковые биопленки было более выражено, чем на псевдомонадные, но и в этом случае уменьшение биомассы биопленки было только у трети клинических штаммов. Для некоторых культур как в моновидовом, так и в смешанном варианте показано, что экспозиция с хлоргексидином приводила к увеличению показателя массивности биопленки. Данный феномен может быть связан с тем, что под действием антисептика происходит лизис поверхностных клеток, содержимое которых (протеазы, лиазы, ДНК-азы) «разрыхляет» биопленку, что способствует проникновению и удержанию красителя, обеспечивая ложное увеличение показателя биомассы биопленки при данном методе оценки. После экспозиции с «Пронтосаном<sup>®</sup>» показано

уменьшение биомассы моновидовых биопленок для обеих культур в 75% случаях и в 100% – для биопленок из ассоциации бактерий *P. aeruginosa* и *S. aureus*.

Сходные тенденции показаны при изучении в биопленках жизнеспособности клеток после воздействия биоцидов. «Пронтосан<sup>®</sup>» полностью снижал выживаемость бактерий как в моновидовых, так и полимикробных биопленках, тогда как при экспозиции с хлоргексидином клетки оставались жизнеспособными, хотя их число было достоверно меньше (Рисунок 15). Разницы в бактерицидном действии хлоргексидина на моновидовые и смешанные биопленки не обнаружено. Несмотря на то, что оба препарата активны в отношении бактериальных биопленок, показано преимущество «Пронтосана<sup>®</sup>» для всех исследованных вариантов, которое, по-видимому, обусловлено действием амидопропил-бетаина, обладающего свойствами поверхностно-активного вещества, разрушающего биопленочную структуру, в результате чего бактерицидный компонент действует очень эффективно.

Таким образом, с помощью показателей, характеризующих массивность биопленки и жизнеспособность sessильных клеток, можно предположительно оценить клиническую эффективность антисептических препаратов: бактерицидную активность и способность разрушать структуру биопленки, что ускоряет элиминацию возбудителя.

## **5.2. Морфометрические показатели, жизнеспособность клеток и массивность биопленок, образованных референтными штаммами *S. aureus* и *P. aeruginosa*, после воздействия антисептиков**

В работе использовали референтные штаммы *S. aureus* ATCC<sup>®</sup>29213 и *P. aeruginosa* ATCC<sup>®</sup>27853, полученные из ФГБУ «Государственный институт стандартизации и контроля имени Л.А. Тарасевича» Минздрава РФ (Москва).

По результатам исследования влияния антисептиков на биопленки, сформированные референтными штаммами *S. aureus* и *P. aeruginosa* на гидрофобной поверхности в лунках полистиролового планшета, показано, что после воздействия «Пронтосана<sup>®</sup>» биомасса моновидовых биопленок

уменьшалась в 1,9 и 7,4 раза, соответственно, а смешанной биопленки – в 5,2 раза (Таблица 30).

Таблица 30

**Массивность и количество клеток в биопленках, образованных на поверхности полистирола смешанной и моновидовыми культурами *S. aureus* и *P. aeruginosa***

Вариант	Биомасса биопленки, Ед, ОП <sub>580</sub> <sup>1</sup>	Количество клеток, КОЕ/мл
<i>S.a</i>	0,232±0,049	9,25E+06 ± 1,12E+06
<i>S.a</i> +ХГ	0,213±0,045	2,60E+03 ± 0,78E+03*
<i>S.a</i> +ПР	0,123±0,068* <sup>α</sup>	0* <sup>α</sup>
<i>P.a</i>	0,547±0,066 <sup>β</sup>	2,13E+07 ± 0,53E+07 <sup>β</sup>
<i>P.a</i> +ХГ	0,475±0,126 <sup>β</sup>	2,67E+04 ± 0,36E+04* <sup>β</sup>
<i>P.a</i> +ПР	0,077±0,014* <sup>α, β</sup>	0* <sup>α</sup>
<i>S.a</i> + <i>P.a</i>	0,458±0,051 <sup>β</sup>	<i>S.a</i> 1,70E+06 ± 0,27E+06 <i>P.a</i> 1,45E+07 ± 0,45E+07 <sup>β</sup>
<i>S.a</i> + <i>P.a</i> +ХГ	0,518±0,081	<i>S.a</i> 2,00E+03 ± 1,76E+03 <i>P.a</i> 2,13E+04 ± 0,74E+04*
<i>S.a</i> + <i>P.a</i> +ПР	0,088±0,012* <sup>α</sup>	0* <sup>α</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup> – определяли спектрофотометрическим методом по элюированию 0,1% генцианвиолета, \* – различия статистически значимы при сравнении с контролем в соответствующем варианте (без обработки антисептиком), <sup>α</sup> – различия статистически значимы при сравнении с хлоргексидином (ХГ), <sup>β</sup> – различия статистически значимы при сравнении с *S. aureus* в аналогичных условиях (при p≤0,05), «Пронтосан<sup>®</sup>» (ПР)

Ни в одном из вариантов не выявлено снижения этого показателя после обработки хлоргексидином. При оценке жизнеспособности клеток в моновидовых биопленках обнаружено, что число КОЕ в контроле составило 9,25E+06 ± 1,12E+06 и 2,13E+07 ± 0,53E+07 для *S. aureus* и *P. aeruginosa*, соответственно (Таблица 30). После экспозиции биопленок с хлоргексидином количество

жизнеспособных клеток для обоих видов бактерий снизилось на три порядка, а при воздействии «Пронтосана<sup>®</sup>» их не было выявлено ни в одном варианте. Данные, полученные для смешанной культуры, позволили констатировать, что в составе биопленки присутствовали обе культуры бактерий и клетки их оставались жизнеспособными (росли на желточно-солевом и цетримидном агарах). Аналогично моновидовым вариантам «Пронтосан<sup>®</sup>» полностью подавлял способность бактерий к росту на агаризованных селективных средах, тогда как при экспозиции с хлоргексидином в биопленках сохранялись жизнеспособные клетки обоих штаммов (Таблица 30).

Использование атомно-силовой (АСМ) и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ) при решении вопросов, связанных с характеристикой/оценкой морфологических особенностей бактериальных клеток при воздействии различных факторов, в том числе в составе биопленок, является актуальным направлением развития современных методов микробиологического анализа (Дерябин Д.Г. и соавт., 2011; Ерохин П.С., 2015; Ramp S.J. et al., 2009; Wright C.J. et al., 2010).

При анализе изображений, полученных с помощью АСМ, выявлено, что моновидовая биопленка, образованная на стекле референтным штаммом *S. aureus*, представлена скоплениями кокков (диаметр отдельных бактерий составил  $1,10 \pm 0,08$  мкм) и имеет структуру плотно прилегающих друг к другу клеток (Рисунок 15). Воздействие антисептиков изменяло размер клеток стафилококков, их диаметр становился достоверно меньше в обоих вариантах (Таблица 31). После часовой обработки биопленок антисептиками появляются участки разряжения, более выраженные после контакта с «Пронтосаном<sup>®</sup>», одним из компонентов которого является поверхностно-активное вещество, разрушающее биопленочную структуру, обуславливая неравномерное распределение матрикса (Рисунок 15). Действительно, показатель  $S_q$ , характеризующий поверхность биопленки, образованной бактериями *S. aureus* на стекле, увеличивался в 1,4 и 3,5 раза после экспозиции с хлоргексидином и «Пронтосаном<sup>®</sup>», соответственно (Таблица 31), что отразилось и на толщине биопленки, которая статистически значимо

уменьшалась (Таблица 32). При оценке жизнеспособности клеток с помощью КЛСМ выявлено, что бактерии в контрольной биопленке в основном живые, но после контакта с антисептиками большинство их становилось поврежденными (Рисунок 16). При выбранных условиях бактерии *P. aeruginosa* непрерывный монослой на стекле не формировали. На АСМ-изображении видны «многоклеточные островки», форма клеток четкая, округлая, определяются жгутики, и большинство клеток в биопленке жизнеспособные (Рисунок 16).

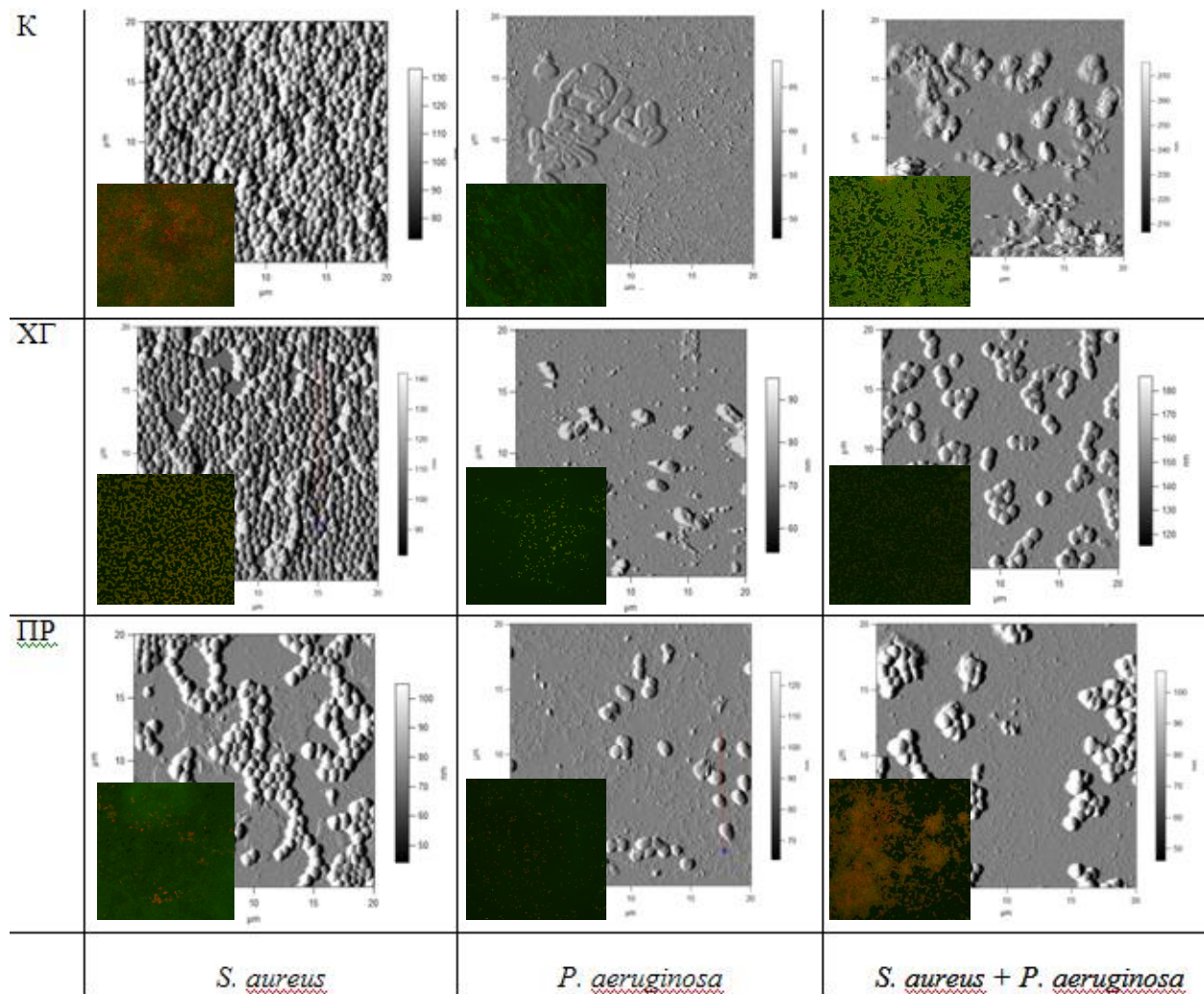


Рисунок 16. АСМ и КЛСМ-изображения 20-часовой биопленки, образованной на стекле штаммами *S. aureus* и *P. aeruginosa* в моно- и микст варианте: К – контроль (ФБС), ХГ – хлоргексидин, ПР – «Пронтосан®».

После воздействия антисептиков бактерии располагались попарно или одиночно, морфологические параметры микробных клеток претерпевали существенные изменения: жгутики не визуализировались, клетки становились

достоверно короче и толще – округлялись (Таблица 31, Рисунок 16). Жизнеспособные клетки в биопленке практически не встречались. Шероховатость клеточной поверхности псевдомонадной биопленки после контакта с хлоргексидином и «Пронтосаном®» увеличивалась в 1,2 и 1,5 раза, соответственно (Таблица 31).

Таблица 31

**Характеристики бактерий в биопленках, образованных на стекле смешанной и моновидовыми культурами *S. aureus* и *P. aeruginosa***

Вариант	Длина (мкм)	Ширина (мкм)	Диаметр (мкм)	Sq (нм)
<i>S.a</i>	-	-	1,10±0,08	105,2±32,4
<i>S.a</i> +ХГ	-	-	0,86±0,10*	150±26,5*
<i>S.a</i> +ПР	-	-	0,85±0,04*	370±37,0* <sup>a</sup>
<i>P.a</i>	2,81±0,22	0,90±0,05	-	138,3±44,3
<i>P.a</i> +ХГ	1,69±0,13*	0,98±0,12*	-	169,5±11*
<i>P.a</i> +ПР	1,37±0,17* <sup>a</sup>	0,94±0,01*	-	207,2±27,5* <sup>a</sup>
<i>S.a</i> + <i>P.a</i>	2,45±0,37	0,99±0,24	1,28±0,18	237,5±95,2
<i>S.a</i> + <i>P.a</i> +ХГ	н/о	н/о	1,14±0,15	336,5±38*
<i>S.a</i> + <i>P.a</i> +ПР	н/о	н/о	1,02±0,09	397,8±47,8* <sup>a</sup>

**Примечание:** \* – различия статистически значимы по сравнению с контролем в соответствующем варианте (без обработки антисептиком), <sup>a</sup> – различия статистически значимы по сравнению с ХГ ( $p \leq 0,05$ ).

АСМ-изображение биопленки, сформированной при совместном росте двух штаммов бактерий, свидетельствует о том, что в ее состав входят обе культуры, но преобладающий вид – кокковая или палочковидная микробиота, оценить не представлялось возможным из-за изменения морфологических параметров клеток (Рисунок 16, Таблица 31). Так, для палочковидных бактерий выявлена тенденция к укорочению и утолщению, для кокков – увеличение в диаметре, хотя изменения размеров клеток статистически не значимы (Таблица 31). Структура биопленки

разряженная, монослой не формируется, тем не менее, выявляются многоклеточные скопления бактерий (Рисунок 16).

Таблица 32

**Толщина биоплёнок и количество клеток в биопленках, образованных на поверхности стекла смешанной и моновидовыми культурами *S. aureus* и *P. aeruginosa***

Вариант		Толщина биопленки мкм <sup>1</sup>	Количество клеток на единицу площади <sup>2</sup>	
			Жизнеспособные	Всего
<i>S.a</i>	1	4,85±0,57	36,4±4,6	сплошь
<i>S.a</i> +ХГ	2	3,76±0,34 p <sub>(1-2)</sub> <0,05	3,4±1,7 p <sub>(1-2)</sub> <0,05	сплошь
<i>S.a</i> +ПР	3	3,27±0,85 p <sub>(1-3)</sub> <0,05	0 p <sub>(1-3)</sub> <0,05 p <sub>(2-3)</sub> <0,05	90,2±17,5 p <sub>(1-3)</sub> <0,05 p <sub>(2-3)</sub> <0,05
<i>P.a</i>	4	4,04±1,22	39,3±12,3	53,5±14,4 p <sub>(1-4)</sub> <0,05
<i>P.a</i> +ХГ	5	н/о	0,8±0,6 p <sub>(4-5)</sub> <0,05	12,8±4,8 p <sub>(2-5)</sub> <0,05 p <sub>(4-5)</sub> <0,05
<i>P.a</i> +ПР	6	н/о	1,6±1,1 p <sub>(3-6)</sub> <0,05 p <sub>(4-6)</sub> <0,05	3,2±2,3 p <sub>(4-6)</sub> <0,05 p <sub>(5-6)</sub> <0,05
<i>S.a</i> + <i>P.a</i>	7	6,16±0,12 p <sub>(1-7)</sub> <0,05 p <sub>(4-7)</sub> <0,05	23,8±8,3 p <sub>(1-7)</sub> <0,05 p <sub>(4-7)</sub> <0,05	119±23 p <sub>(1-7)</sub> <0,05 p <sub>(4-7)</sub> <0,05
<i>S.a</i> + <i>P.a</i> +ХГ	8	3,44±0,23 p <sub>(7-8)</sub> <0,05	5,7±4,3 p <sub>(7-8)</sub> <0,05	59,8±24,7 p <sub>(7-8)</sub> <0,05
<i>S.a</i> + <i>P.a</i> +ПР	9	3,28±0,65 p <sub>(7-9)</sub> <0,05	0	38,2±0,5 p <sub>(7-9)</sub> <0,05 p <sub>(8-9)</sub> <0,05

**Примечание:** <sup>1</sup> – определяли путем послойного сканирования слоев биопленки, предварительно окрашенной флюоресцирующей меткой Live/Dead<sup>®</sup>, <sup>2</sup> – подсчитывали не менее, чем в пяти полях после нанесения сетки на образец; н/о – не определяли.

После часовой обработки смешанной биопленки растворами антисептиков сохраняются отдельные скопления бактерий на поверхности стекла. При



количественном подсчете клеток после получения КЛСМ-изображений обнаружено снижение, как общего числа бактерий, так и жизнеспособных клеток (Таблица 32). При этом их диаметр достоверно уменьшался в варианте с «Пронтосаном<sup>®</sup>», а типичные палочковидные клетки визуализировать не удалось. Показатель шероховатости поверхности полимикробной биопленки в большей степени увеличивался после контакта с «Пронтосаном<sup>®</sup>», что было выявлено и для моновидовых культур (Таблица 31). Необходимо отметить, что и в бинарном, и в моновидовых вариантах при КЛСМ-сканировании толщина биопленки снижалась после обработки обоими антисептиками (Таблица 32).

Таким образом, применение АСМ и КЛСМ при изучении бактериальных биопленок референтных штаммов *S. aureus* и *P. aeruginosa* позволило оценить их фенотипические изменения под действием антисептических препаратов, а именно вариабельность морфологии клеток бактерий и структурных изменений клеточной поверхности. В результате воздействия биоцидов клетки становились меньше по размеру или округлялись, шероховатость поверхности увеличивалась. Дезорганизация поверхностных клеточных структур происходила под влиянием обоих антисептиков, но при воздействии «Пронтосана<sup>®</sup>» показатель шероховатости увеличивался более значимо. Сходные данные получены и при оценке жизнеспособности бактерий: использование «Пронтосана<sup>®</sup>» дало лучший антибактериальный эффект в отношении сессильных клеток двух основных возбудителей раневых инфекций.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Актуальной проблемой современной комбустиологии остаётся активная хирургическая тактика с возможностью скорейшего восстановления целостности кожного покрова, особую значимость это имеет для пациентов с обширными ожогами III степени более 10% п.т. Проблема приживления аутодермотрансплантатов до сих пор остаётся серьезной (Юрова Ю.В., 2014). Причиной лизиса аутодермотрансплантатов многие авторы считают бактериальную контаминацию ожоговой раны, и проникновение микроорганизмов в толщу грануляционной ткани.

На сегодняшний день аппаратным методам обработки ожоговых ран посвящено огромное количество исследований, как в России, так и за рубежом (Бобров А.М. и соавт., 2012; Завацкий В.В. и соавт., 2012; Nyland E.J. et al., 2015). Активно внедряются в повседневную практику ультразвуковая кавитация, гидрохирургия, вакуумная терапия ран, аргоноплазменная коагуляция. Благодаря своей малотравматичности гидрохирургические методы нашли широкое применение в комбустиологии (Погодин И.Е. и соавт., 2013). Однако до сих пор нет четких критериев обоснования по срокам, объему активной хирургической тактики с первичной кожной пластикой. Поэтому необходим поиск оптимальных схем применения комбинированных методов хирургического лечения и ротации антисептиков при глубоких ожогах.

Целью данного исследования явилось улучшение результатов комбинированного хирургического лечения ожогов III степени и определение тактики активного ведения пациентов. Нами была проведена сравнительная оценка лечения двух групп пациентов. В первой группе (n=71) пользовались традиционным хирургическим лечением с консервативной подготовкой ран к аутодермопластике. Во второй группе (n=68) применялась гидрохирургическая обработка гранулирующих ран с последующей аутодермопластикой, где в послеоперационном периоде использовался антисептик «Пронтосан®». Возраст пациентов составил от 38 до 87 лет. По этиологии травмирующего агента большая

часть пациентов имела ожоги пламенем (55,4%) и преобладающее количество в обеих группах составили мужчины. Для более детального сравнения в каждой группе были выделены две подгруппы в зависимости от площади глубокого ожога: до 10 и 11-20% п.т.

В группе с традиционным хирургическим лечением срок подготовки к аутодермопластике не зависел от вида применяемой некрэктомии и составил  $26,7 \pm 5,7$  дней. Достоверных различий между группой с ограниченными глубокими ожогами и обширными выявлено не было. Однако, у пациентов с площадью глубоких ожогов от 11 до 20% предоперационная подготовка от момента травмы оказалась меньше. По-видимому, это связано с тем, что данная группа больных раньше попадает в специализированный стационар, где им проводится своевременное и адекватное лечение. Тенденция к увеличению сроков предоперационной подготовки связана с поздним поступлением и наличием влажного струпа, что препятствует своевременному оперативному лечению. При анализе данных времени оперативного лечения от времени поступления в отделение выяснилось, что этот срок составил  $21,2 \pm 4,7$  день. Восстановлением кожных покровов считали время со дня первой аутодермопластики и до полной эпителизации остаточных ран. У пациентов с обширными глубокими ожогами этот срок оказался достоверно больше и составил  $27,8 \pm 2,8$  дней ( $p < 0,05$ ). Данный факт связан с тем, что в этой группе проводились этапные операции и использовались аутодермотрансплантаты с большим коэффициентом перфорации, что и приводило к увеличению сроков госпитализации. Важным показателем эффективности хирургического лечения ожогов III степени является частота осложнений в виде лизиса аутодермотрансплантатов. В группе с традиционным лечением эта цифра составила 20,2% случаев. Бактериальные посевы, взятые до оперативного лечения и на пятые сутки после него, выявили преобладание бактерий *P. aeruginosa*, которые присутствовали как в виде монокультур, так и в составе ассоциаций.

С целью улучшения исходов хирургического лечения глубоких ожогов во второй группе пользовались методом гидрохирургической обработки с

применением в послеоперационном периоде влажно-высыхающих повязок с «Пронтосаном<sup>®</sup>». За одну операцию закрытие всех ожоговых поверхностей было выполнено у 88,2% пациентов. У пациентов с глубокими ожогами до 10% срок до оперативного лечения от момента травмы оказался достоверно меньше и составил  $24,7 \pm 3$  дня. Мы предполагаем, что это связано с тем, что хирургическое лечение проводилось на грануляции, клинически не готовой к аутодермопластике, что повлияло и на сроки предоперационной подготовки со времени поступления в стационар:  $11,4 \pm 1,8$  дней. Восстановление кожных покровов достоверно дольше проходило у пациентов с обширными глубокими ожогами:  $26,5 \pm 1,9$  дней. Общий процент лизиса в послеоперационном периоде оказался незначительным и составил 6,5% случаев, что отразилось и на общем стационарном лечении, в увеличении сроков госпитализации в стационаре до  $27,2 \pm 3,5$  дней. Отличительной особенностью данной группы было использование после некрэктомии липидоколлоидных повязок на основе серебра, что позволило снизить бактериальную обсеменённость ран и сохранить влажную среду. Использование в послеоперационном периоде влажно-высыхающих повязок с раствором «Пронтосана<sup>®</sup>» практически полностью подавляло рост микробиоты.

Следующим этапом исследования была оценка эффективности гидрохирургической обработки с использованием в послеоперационном периоде «Пронтосана<sup>®</sup>». Для этого было проведено сравнительное изучение результатов аутодермопластики с предшествующим гидрохирургическим лечением и без него. Так в группе с гидрохирургической обработкой средняя площадь первичной аутодермопластики была достоверно больше ( $p < 0,05$ ) и полное закрытие всех кожных дефектов выполнено у 88,2% человек, что больше в сравнении с группой с традиционным лечением, где эта цифра составила 81,6% случаев. При ограниченных глубоких ожогах до 10% в группе с гидрохирургической обработкой аутодермопластическое закрытие выполнялось раньше на  $22,2 \pm 2,6$  дня в сравнении с группой с традиционным лечением на  $26,7 \pm 5,7$  сутки, разница статистически достоверна ( $p < 0,05$ ). Так же показана статистическая достоверность в сроках подготовки к оперативному лечению от момента

поступления в стационар, где для пациентов с гидрохирургической обработкой и традиционным лечением эти цифры составили  $11,5 \pm 1,6$  и  $21,2 \pm 4,7$  сутки, соответственно ( $p < 0,05$ ). У больных с ожогами III степени от 11 до 20% также показана статистическая достоверность  $12,9 \pm 0,7$  и  $19,8 \pm 7,1$  дней. Средний срок восстановления кожного покрова в группах отличался незначительно, однако показана статистическая достоверность в периоде эпителизации при обширных глубоких ожогах  $26,5 \pm 1,9$  дней, что меньше, чем в группе с традиционным лечением  $27,8 \pm 2,8$  дней ( $p < 0,05$ ). Применение комплексного подхода с использованием гидрохирургического инструмента и комбинированного антисептика позволило достоверно снизить частоту лизиса пересаженных аутодермотрансплантатов с 20,2% до 6,5% ( $p < 0,05$ ). Совокупность всех данных привела к значительному снижению времени нахождения в стационаре пациентов из группы с гидрохирургическим лечением:  $27,2 \pm 3,5$  дней в сравнении с  $47 \pm 9,6$  сутками для больных с традиционным лечением ( $p < 0,05$ ).

Для разработки алгоритма ведения пострадавших с глубокими ожогами были проанализированы результаты хирургического лечения в зависимости от площади и сроков проведения оперативного лечения от момента травмы. Таким образом, при глубоких ожогах до 10% п.т. проведение гидрохирургической обработки позднее двадцатых суток после травмы достоверно сокращает сроки предоперационной подготовки и способствует снижению лизиса до 0% и количества операций на одного пациента. В случае выполнения хирургического лечения до двадцатых суток гидрохирургическая обработка раневых поверхностей является операцией выбора. Для пациентов с ожогами III степени от 11 до 20% п.т. процедура гидрохирургической обработки является эффективной при проведении ее позднее двадцатых суток после травмы, в случае грануляционной ткани, не отвечающей клиническим критериям готовности и высокой микробной контаминацией более  $10^5$  КОЕ/мл. Если грануляции яркие, мелкозернистые, с хорошими адгезивными свойствами, то предпочтительно проведение традиционного хирургического лечения.

Бактерии *S. aureus* и *P. aeruginosa* являются сильными антагонистами, тем не менее, ассоциации данных видов часто встречаются при муковисцидозе, осложненном инфекционным процессом (Васильева Т.Г. и соавт., 2011; Yang L. et al., 2011; Fugère A. et al., 2014), и в раневом отделяемом больных ожоговых и реанимационных отделений (Шипицына И.В. и соавт., 2014; Бондаренко Е.В. и соавт., 2012).

Исследование, проведенное в ожоговом отделении ГАУЗ ПК ГKB №21 г. Перми в 2011-12 гг., позволило получить информацию об особенностях инфицирования ожоговых ран в современных условиях. Выявлено, что доминирующими видами по-прежнему остаются *S. aureus* и *P. aeruginosa*, часто встречаются коагулазоотрицательные виды стафилококков: *S. epidermidis* и *S. haemolyticus*. Среди грамотрицательных бактерий, помимо псевдомонад, наиболее значимым оказался *A. baumannii*, который достоверно чаще присутствовал в составе ассоциаций, в том числе с *P. aeruginosa*. Необходимо отметить, что штаммы доминирующих видов выделяли из раневого отделяемого в течение всего года, тогда как *A. baumannii* изолировали спорадически. Оказалось, что среди представителей трех видов бактерий были выявлены идентичные и/или схожие геномоварианты, что свидетельствует о формировании госпитальных штаммов и об их персистировании в больничной среде ожогового отделения. Это подтверждается и анализом антибиотикоустойчивости: грамотрицательные неферментирующие бактерии в значительном проценте случаев были полирезистентными. При этом отсутствие в геноме бактерий последовательностей, кодирующих VIM-2-металло-бета-лактамазы и маркирующих интегроны I класса, характеризует эпидемиологическую ситуацию как благополучную.

Изучение влияния различных антибактериальных веществ на биопленки *in vitro* предоставляет возможность проводить качественный и количественный анализ с различными моновидовыми и смешанными культурами, сравнивать несколько препаратов между собой, определять механизмы их действия. Проведенное исследование позволило получить новую информацию о влиянии

хлоргексидина и «Пронтосана<sup>®</sup>» на биопленки, образованные референтными и клиническими штаммами *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Результаты экспериментов по влиянию антисептиков на биопленку, сформированную клиническими изолятами *S. aureus* на гидрофобной поверхности в лунках полистиролового планшета, показали, что биомасса 20-часовой биопленки уменьшалась после воздействия «Пронтосана<sup>®</sup>». Аналогичные данные получены для клинических изолятов *P. aeruginosa*: показатель, характеризующий массивность биопленки, достоверно отличался для пары контроль/«Пронтосан<sup>®</sup>» ( $t$ -test:  $p=0,00437$ ) и хлоргексидин/«Пронтосан<sup>®</sup>» ( $t$ -test:  $p=0,00054$ ).

Действие антисептических препаратов может существенно отличаться при моновидовой и смешанной инфекциях, поэтому было изучено влияние антисептиков на полимикробные биопленки, образованные бактериями *P. aeruginosa* и *S. aureus*. Биомасса смешанной биопленки была достоверно больше, чем при росте штаммов синегнойной палочки в моновидовой культуре ( $t$ -test:  $p=0,00028$ ). Тем не менее, при экспозиции с «Пронтосаном<sup>®</sup>» во всех вариантах (100%) установлено статистически значимое снижение биомассы. Необходимо отметить, что хлоргексидин, практически не влияя на биомассу псевдомонадных биопленок, оказывает разрушающее воздействие на биопленки, сформированные в смешанной культуре с бактериями *S. aureus*.

Выживаемость бактерий под влиянием антибиотиков/антисептиков определяет эффективность терапии при инфекционных осложнениях. После экспозиции биопленок *P. aeruginosa* с хлоргексидином количество жизнеспособных клеток статистически значимо снизилось ( $W$ -test:  $p=0,01172$ ), а при воздействии «Пронтосана<sup>®</sup>» их не было выявлено ни в одном варианте. Данные, полученные для смешанной биопленки, были сходными: хлоргексидин достоверно снижал число жизнеспособных клеток во всех вариантах ( $W$ -test:  $p=0,04312$ ), тогда как «Пронтосан<sup>®</sup>» полностью подавлял способность бактериальных клеток к росту.

Совершенствование техники микроскопирования, комплексное применение КЛСМ и АСМ позволяет с большей эффективностью изучать феномен

биоупленкообразования бактерий, а именно оценивать жизнеспособность клеток, особенности структуры поверхности, архитектонику, клеточный и матриксный компоненты биопленки. Применение АСМ при изучении бактериальных биопленок позволило оценить их фенотипические изменения под действием антисептических препаратов, в частности вариабельность морфологии клеток бактерий и структурных изменений клеточной поверхности. В результате воздействия биоцидов клетки становились меньше по размеру или округлялись, шероховатость поверхности увеличивалась. Дезорганизация поверхностных клеточных структур происходила под влиянием обоих антисептиков, но при воздействии «Пронтосана®» показатель шероховатости увеличивался более значимо. Сходные данные показаны и при оценке жизнеспособности бактерий с помощью КЛСМ: использование «Пронтосана®» дало лучший антибактериальный эффект в отношении сессильных клеток двух основных возбудителей раневых инфекций.

Таким образом, после тестирования двух наиболее востребованных в клинической практике антисептиков на моновидовых и полимикробных биопленках, сформированных доминантными этиопатогенами, был получен более выраженный эффект «Пронтосана®». Данный эффект связан с действием амидопропил-бетаина, приводящего к «разрыхлению» биопленки, уменьшению количества внеклеточного матрикса, что увеличивает доступность антибактериального компонента к клеткам внутренних слоев биопленки. Понятно, что в естественных условиях и искусственных системах «поведение» бактериальных биопленок, в том числе в контексте эффективности антибактериальных/антисептических препаратов, может существенно различаться. Тем не менее, изучение влияния биоцидов на клеточный и матриксный компоненты бактериальных биопленок *in vitro* важно с точки зрения понимания механизмов, способствующих их разрушению/удалению, и выработки новых методов лечения инфекционных заболеваний, ассоциированных с биопленками.



## ВЫВОДЫ

1. Эффективность методов комбинированного хирургического лечения с использованием гидрохирургической системы и антисептика «Пронтосан®» по сравнению с традиционным лечением подтверждена следующими данными: уменьшением случаев лизиса аутодермотрансплантатов, уровня бактериальной обсемененности грануляционной ткани, снижением числа повторных операций и сокращением сроков стационарного лечения.
2. Гидрохирургическая обработка гранулирующих ожоговых ран с одномоментной аутодермопластикой являлась эффективным методом хирургического лечения ожогов III степени, когда грануляции не отвечали клиническим критериям готовности и имели уровень бактериальной обсемененности более  $10^5$  КОЕ/мл.
3. Показано, что использование в послеоперационном периоде повязок, пропитанных раствором «Пронтосана®», ингибировало рост раневой микробиоты, что приводило к снижению лизиса аутодермотрансплантатов с 20,2% до 6,5%.
4. Инфицирование ожоговой раны III степени более, чем в 40% случаев обусловлено *S. aureus* и *P. aeruginosa*, которые доминировали как при моновидовых, так и при смешанных инфекциях, первичном инфицировании или при смене возбудителя в ране, благодаря способности к длительному персистированию. Грамотрицательные неферментирующие бактерии в значительном проценте случаев были полирезистентными, при этом не обнаружено носителей интегронов 1-го класса, *bla<sub>VIM-2</sub>*.
5. Установлено, что под действием биоцидов происходили фенотипические изменения структурной организации бактериальных биопленок и морфологии sessильных клеток *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Достоверное изменение линейных размеров клеток сопровождалось увеличением шероховатости их поверхности, более выраженное для «Пронтосана®», чем для хлоргексидина.
6. При оценке жизнеспособности клеток выявлено, что «Пронтосан®» подавлял жизнеспособность бактерий в смешанной и моновидых биопленках,

образованных как на гидрофильной, так и на гидрофобной абиотических поверхностях. В последнем случае уменьшалась и массивность биопленки во всех вариантах.

7. Использование алгоритма комбинированного хирургического лечения ожогов III степени, разработанного с учетом площади ожога, срока с момента термической травмы, клинических критериев готовности грануляций и бактериальной обсемененности раны, приводило к улучшению результатов лечения ожоговых ран.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Традиционное хирургическое лечение глубоких ожогов III степени показано при клинической готовности грануляций и бактериальной обсемененности менее  $10^5$  КОЕ/мл, если площадь ожога составляет до 10% п.т. и время от момента термической травмы менее 20 дней, или площадь ожога – от 11-20% п.т. при сроке от 20 до 30 дней.
2. При ожогах III степени до 10% п.т. гидрохирургическая обработка гранулирующих ран является операцией выбора, если с момента травмы прошло более 30 дней. Гидрохирургическое иссечение грануляционной ткани с последующим одномоментным аутопластическим закрытием необходимо применять на 20-30 сутки в случае, когда ожоговые раны не отвечают критериям готовности к АДП.
3. Бактериальная обсемененность  $10^5$  КОЕ/мл является показанием к гидрохирургической обработке гранулирующих ран с последующей одномоментной аутодермопластикой и использованием в послеоперационном периоде «Пронтосана<sup>®</sup>».
4. Изучение антимикробного действия биоцидов следует проводить в моновидовых и смешанных биопленках с определением массивности биопленки и жизнеспособности бактериальных клеток, что обеспечивает объективность оценки эффективности препарата.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аганина, Е.Н. Комплексное использование повязок silkofix professional в практике комбустиолога / Е.Н. Аганина, О.Л. Ведерникова // Материалы IV съезда комбустиологов России. – 2013. – С. 90–91.
2. Адмакин, А.Л. Тангенциальные некрэктомии у взрослых: существующие проблемы и перспективы / А.Л. Адмакин, В.А.Максюта, П.А. Кабанов, В.В. Гукова // материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию первого ожогового центра России. – 2016. – С. 3.
3. Крамер, А. Обзор профилактики ИОХВ и новые тенденции в раневых антисептиках [Электронный ресурс] / А. Крамер // – 2014. – Режим доступа: [http://nasci.ru/\\_resources/directory/129/common/1\\_Kr3.pdf](http://nasci.ru/_resources/directory/129/common/1_Kr3.pdf)
4. Александер, Д.У. Иммунология для хирургов / Д.У.Александер, Р.А. Гуд // Пер. с англ. – М.: Медицина, 1974. – 191 с.
5. Алексеев, А.А., Опыт применения полигексанида для местного лечения инфицированных ожоговых ран / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников, М.Г. Крутиков [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2006. – № 1. – С. 55–58.
6. Алексеев, А.А. Местное использование антимикробных средств для лечения ожоговых ран [Электронный ресурс] / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников, М.Г. Крутиков // Комбустиол. – 2011. – № 45. – Режим доступа: <http://combustiolog.ru/journal/mestnoe-ispol-zovanie-antimikrobny-h-sredstv-dlya-lecheniya-ozhogovy-h-ran/>
7. Алексеев, А.А. Местное консервативное лечение ран на этапах оказания помощи пострадавшим от ожогов: клинические рекомендации // А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников, М.Г. Крутиков, Ю.И. Тюрников, С.Б. Богданов Общероссийская общественная организация «Объединение комбустиологов «Мир без ожогов». – 2014. – 22 с.

8. Алексеев, А.А. Ожоговый сепсис: диагностика, профилактика, лечение: автореф. дис. ... док. мед.наук: 14.01.17 / Алексеев Андрей Анатольевич. – Москва, 1993. – 24 с.
9. Алексеев, А.А. Принципы организации и оказания медицинской помощи пострадавшим от ожогов / А.А. Алексеев, С.В. Попов // Сборник тезисов конференции «Актуальные вопросы лечения термической травмы». – 2015. – № 55. – С. 13–14.
10. Алексеев, А.А. Разработка технологии применения повязок силкофикс у пострадавших от ожогов / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников, Н.Б. Малютина, И.Е. Никитенко, Д.Р. Мутигулина // Сборник тезисов конференции «Актуальные вопросы лечения термической травмы». – 2015. – № 55. С. 15–16.
11. Алексеев, А.А. Современные методы лечения ожогов и ожоговой болезни [Электронный ресурс] / А.А. Алексеев // Комбустииол. – 1999. – № 1. – Режим доступа: <http://combustiolog.ru/journal/sovremenny-e-metody-lecheniya-ozhogov-i-ozhogovoj-bolezni/>
12. Алексеев, А.А. Хирургическая обработка гранулирующих ран у обожжённых / А.А. Алексеев, О.А. Кудзоев, П.Н. Тютюма // Межд. конгр., «Комбустииология на рубеже веков». – М., 2000. – С. 131–132.
13. Алексеева, Е.И. Некоторые особенности эпидемического процесса внутрибольничных инфекций в детских ожоговых отделениях / Е.И. Алексеева, А.В. Слободенюк // Гигиена и эпидемиология. – 2007. – №11(39). – С. 93–95.
14. Афиногенова, А.Г. Микробные биопленки ран: состояние вопроса / А.Г. Афиногенова, Е.Н. Даровская // Травматология и ортопедия России. – 2011. – № 3(61). – С. 119–125.
15. Афиногенова, А.Г., Предупреждение формирования микробных биопленок на изделиях медицинского назначения под влиянием нанокластеров серебра / А.Г. Афиногенова, Г.Е. Афиногенов, А.Н. Пострелов, М.В. Краснова // Высокие технологии в медицине – 2008. – № 3(28). – С. 171–174.
16. Байдамшина, Д.Р. Поиск ингибиторов бактериальных биопленок на основе фуранонов и пирроллинонов / Е.Ю. Тризна, З.Р. Гайнутдинова, И.С.

- Шарафутдинов, А.Р. Каюмов // Студенческий научный журнал «Грани науки». – 2014. – Т.2. – №3. – С.33–36.
17. Бережанский, Б.В. Катетер-ассоциированные инфекции кровотока / Б.В. Бережанский, А.А. Жевнерев // Клин.микробиол. антимикроб. химиотер. – 2006. – Т. 8, № 2. – С. 130–144.
18. Бехало, В.А. Иммунобиологические особенности бактериальных клеток, входящих в состав «медицинских биопленок» / В.А. Бехало, В.М. Бондаренко, Е.В. Сысолятина // Микробиол. – 2010. – № 4. – С. 97–107.
19. Блатун, Л.А. Местное медикаментозное лечение ран / Л.А. Блатун // Хирургия. Журн. им. Н.И. Пирогова. – 2011. – № 4. – С. 51–59.
20. Блатун, Л.А. Пронтосан в комплексном лечении хронических ран / Л.А. Блатун, А.А. Вишневецкий, А.О. Жуков, А.А. Печетов, Р.П. Терехова, И.А. Чекмарева, В.А. Митиш, Ю.С. Пасхалова // Материалы I Международного конгресса «Раны и раневые инфекции». – 2012. – С. 44–45.
21. Бобров, А.М. Технология фотодинамической терапии при лечении больных с хирургической гнойной инфекцией / А.М. Бобров, А.А. Степаков // Материалы I Международного конгресса «Раны и раневые инфекции». – 2012. – С. 48–49.
22. Бобровников, А.Э. Антибиотикопрофилактика послеоперационных инфекционных осложнений в комбустиологии: дис. канд. мед. наук: 14.01.17 / Бобровников Александр Эдуардович. – Москва, – 2000. – 260 с.
23. Бобровников, А.Э. Новые возможности и эффективность антимикробного лечения ожоговых ран / А.Э. Бобровников, А.А. Алексеев, М.Г. Лагвилава // Материалы всероссийской конференции с международным участием «Современные аспекты лечения термической травмы». – 2011. – № 46. – С.23-27.
24. Бобровников, А.Э. Результаты изучения эффективности повязок хитоскин-колл с факторами роста для лечения обожженных / А.Э. Бобровников, Н.Б. Малютина, М.Г. Лагвилава // Материалы IV съезда комбустиологов России. – 2013. – С. 96–97.

25. Бобровников, А.Э. Технологии местного консервативного лечения обожжённых: дис. д-ра мед.наук: 14.01.17 / Бобровников Александр Эдуардович. – Москва, – 2012. – 312 с.
26. Богданов, С.Б. Современные аспекты раннего хирургического лечения ожогов тыльной поверхности кисти / С.Б. Богданов, Р.Г. Бабичев // материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию первого ожогового центра России. – 2016. – С. 13.
27. Богомолова, Н.С. Проблема лечения гнойно-воспалительных осложнений, обусловленных *Acinetobacter*. / Н.С. Богомолова, Л.В. Большаков, С.М. Кузнецова // Анестезиол. реаниматол. – 2014. – №1. – С. 26–32.
28. Божкова, С.А. Способность к формированию биоплёнок у клинических штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* – ведущих возбудителей ортопедической имплант-ассоциированной инфекции / С.А. Божкова, М.В. Краснова, Е.М. Полякова, А.Н. Рукина, В.В.Шабанова // Клинич. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 149–156.
29. Бондаренко, Е.В. Анализ распространенности инфекций, вызванных синегнойной палочкой, в хирургических отделениях БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1 / Е.В. Бондаренко, Т.М. Лапа, Л.Г. Сергеева, Л.М. Дементьева // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 1–2. – С. 473–474.
30. Брегадзе, А.А. Применение гидрохирургического метода в лечении ран / А.А. Брегадзе, О.С. Олифирова, О.В. Фомина, А.А. Лебедь, О.А. Зубкова // Тезисы международной научно-практической конференции «Хирургическая обработка ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых». – 2014. – С. 59–60.
31. Брегадзе, А.А. Применение гидрохирургической системы «versajet» при лечении ран различной этиологии / А.А. Брегадзе, О.А. Зубкова, О.В. Фомина, А.А. Лебедь, В.И. Лакоценин, С.Б. Ильгельдиев, Т.Н. Клепикова // тезисы III съезда комбустиологов России. – 2010. – С. 201–202.
32. Брусина, Е.Б. Эпидемиология внутрибольничных гнойно-септических инфекций в хирургии / Е.Б. Брусина, И.Б. Рычагов // Новосибирск. 2006.– 169 с.

33. Бутко, Я.А. Ожоги кожных покровов: классификация и методы лечения [Электронный ресурс] / Я.А.Бутко, О.В. Ткачева // Провизор. – 2008. – № 2. [http://www.provisor.com.ua/archive/2008/N02/butko\\_og\\_028.php](http://www.provisor.com.ua/archive/2008/N02/butko_og_028.php)
34. Бухарин, О.В. Ассоциативный симбиоз / О.В. Бухарин, Е.С. Лобакова, Н.В. Немцева, С.В. Черкасов // – Екатеринбург: УрО РАН, – 2007. – 264 с.
35. Васильева, Т.Г. Некоторые аспекты поражения органов дыхания и желудочно–кишечного тракта при муковисцидозе у детей / Т.Г. Васильева, С.Н. Шишацкая, Я.Е Павлова // X Нац. конгресс «Муковисцидоз у детей и взрослых». – 2011. – С. 91–97.
36. Владимиров, И.В. Современные возможности улучшения результатов лечения ожоговых ран [Электронный ресурс] / И.В. Владимиров, Д.В. Черданцев, Д.В. Владимиров, Т.П. Ванюхина // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 4 <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14160>
37. Власов, А.А. Применение коллаген-хитозановых раневых покрытий и дермального эквивалента кожи в местном лечении термических ожогов : дисс. канд. мед. наук.: 14.01.17, 14.03.02 / Власов Алексей Александрович. – Красноярск, 2010. – 126 с.
38. Войновский, Е.А. Система лечения ожоговых ран в собственной жидкой среде / Е.А. Войновский, В.А Мензул., Т.Г. Руденко // – Москва: 2015. – 271 с.
39. Воробьев, А.А. Место аппаратных методов обработок ран в повседневной практике отделения гнойной хирургии / А.А. Воробьев, И.С. Миронова, С.А. Щербаков, С.Ю. Наумова // Материалы Международной научно-практической конференции «Хирургическая обработка ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых». – 2014. – С. 64–66.
40. Воробьева, О.Н. Этиология гнойно-септических процессов у ожоговых больных / О.Н. Воробьева, Л.И. Денисенко, Н.М. Жилина // Бюл. со РАМН. – 2010. – № 6. – С. 57–63.
41. Гаврилова, И.А. Атомно-силовая микроскопия морфоструктурных изменений *Pseudomonas aeruginosa*, подвергшихся воздействию биоцида на основе алкилдиметилбензиламмония хлорида и полигексаметиленгуанидина /



- И.А. Гаврилова, Г.К. Жавнерко, Л.П. Титов // Доклады нац. ак. наук. Беларуси. – 2013. – № 5. – С. 81–87.
42. Гаврилова, И.А. Оценка влияния субббиоцидных доз полигуанидина на морфометрические параметры колоний и бактериальных клеток *Pseudomonas aeruginosa* методом атомно-силовой микроскопии / И.А. Гаврилова, Л.П. Титов // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. под ред. проф. Г.М. Игнатъева. – 2011. – Т. 4. – С. 244–249.
43. Ганичев, Д.А. Комплексное лечение гнойно-некротических форм синдрома диабетической стопы с использованием гидрохирургической системы erbejet 2 и бактериофагов / Д.А. Ганичев, В.В. Анищенко, В.В. Морозова // Материалы Международной научно-практической конференции «Хирургическая обработка ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых». – 2014. – С. 70–71.
44. Галкин, Д.В. Карбапинемы через 20 лет после открытия: современные микробиологические и клинические аспекты / Д.В. Галкин // Клин.микробиол.антимикроб.химиотер. – 2001. – Т. 9, № 2. – С. 133–152.
45. Голуб, А.В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии? / А.В. Голуб // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2012. – Т. 14. – № 1. – С. 23–29.
46. Горбич, Ю.Л. Эмпирическая терапия при инфекциях, вызванных *Acinetobacter baumannii* / Ю.Л. Горбич, И.А. Карпов // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2012. Т. 14, № 1. – С. 67–73.
47. Гординская, Н.А. Фенотипические и молекулярно-генетические особенности возбудителей раневой ожоговой инфекции / Н.А. Гординская, Е.В. Сабирова, Н.В. Абрамова, Е.В. Дударева, Е.Ю. Склеенова, Е.С. Некаева // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 342–346.
48. Гостев, В.В. Бактериальные биопленки и инфекции / В.В. Гостев, С.В. Сидоренко // Журн. инфектол. – 2010. – Т. 2, № 3. – С. 4–15.
49. Гостев, В.В. Распространение генов комплекса Immune evasion cluster и других факторов вирулентности у *Staphylococcus aureus* / В.В. Гостев, А.Е. Гончаров, М.А. Грачева, С.В. Сидоренко // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 270–278.

50. Дерябин, Д.Г. Исследование воздействия ампициллина на морфологические и механические свойства клеток *Escherichia coli* и *Bacillus cereus* с использованием метода атомно-силовой микроскопии / Д.Г. Дерябин, А.С. Васильченко, А.Н. Никиян // Антиб. химиотер. – 2011 – Т. 7, № 8. – С. 7–12.
51. Дмитриева, Н.В. Разработка стратегических подходов терапии инфекций, вызванных мультирезистентными *Acinetobacter baumannii* / Н.В. Дмитриева, З.В. Григорьевская, С.А. Дьякова, И.А. Ключникова, И.Н. Петухова // Сибирский онкол. журн. – 2012. – № 4.(52). – С. 11–19.
52. Ерохин, П.С. Атомно-силовая микроскопия как инструмент определения чувствительности бактерий к факторам биотической и абиотической природы: автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук: 03.01.02 / Ерохин Павел Сергеевич. – Саратов, 2015. – 23 с.
53. Завацкий, В.В. Результаты клинического применения вакуумной терапии в лечении ран и раневых инфекций / В.В. Завацкий, А.А. Сулейманов, А.С. Новицкий, А.Н. Олещук // Материалы I Международного конгресса «Раны и раневые инфекции». – 2012. – С. 112–113.
54. Зверьков, А.В. Хлоргексидин: прошлое, настоящее и будущее одного из основных антисептиков / А.В. Зверьков, А.П. Зузова // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 279–285.
55. Зиновьев, Е.В. Эффективность антисептических растворов при лечении дермальных ожогов / Е.В. Зиновьев, Н.В. Алов, А.В. Апчел, А.Г. Васильева, Д.К. Якимов // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2014. – №4(48). – С. 173–181.
56. Змеева, Е.В. Лучевая диагностика термических ожогов верхних конечностей / Е.В. Змеева // Вестник рентгенологии и радиологии. – 2011. – № 3. – С. 61–63.
57. Иванов, А.П. Использование гидрохирургической системы versajet для обработки ран при гнойно-некротических формах синдрома диабетической стопы / А.П. Иванов, Л.Ю. Моргунов, М.А. Алиева // Материалы Международной научно-практической конференции «Хирургическая обработка ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых». Москва. – 2014. – С. 99–100.

58. Иванов, Д.В. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, этиология, антибактериальная терапия и профилактика / Д.В. Иванов, И.В. Крапивина, Е.В. Галева // Антиб. химиотер. – 2005. – Т. 50, № 12. – С. 19– 28.
59. Иманбаева, М.И. Биологические особенности бактерий рода *Acinetobacter*, выделенных при гнойно-воспалительных заболеваниях: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Иманбаева Марина Илеулевна. – Астана, 2000. – 22 с.
60. Информационный бюллетень ВОЗ №365, 2014.
61. Исаков, М.А. Получение рекомбинантных атоксичных форм экзотоксина А *Pseudomonas aeruginosa* и изучение их иммунобиологических свойств: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Исаков Михаил Андреевич. – Москва, – 2010. – 24 с.
62. Качанова, О.А. Антибактериальная активность некоторых коллоидных форм наносеребра в отношении неферментирующих грамотрицательных бактерий [Электронный ресурс] / О.А. Качанова, С.Р. Федосов, В.В. Малышко, А.А. Басов, М.В. Архипенко, К.Н. Чернобай // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №. 2. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=12530>
63. Кирик, О.В. Инфекция ожоговой раны и борьба с ней / О.В. Кирик, П.О. Соловей, Я.О. Маслий // Госпитальная хирургия. – 1999. – № 4. – С. 30–33.
64. Ковалев, А.С. Хирургическая обработка огнестрельных гранулирующих ран с одномоментной аутодермопластикой стопы / А.С. Ковалев, В.А. Мензул, А.Е. Войновский // Материалы Международной научно-практической конференции «Хирургическая обработка ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых». – Москва, 2014. – С. 118–120.
65. Колесников, И.С. Оперативное лечение глубоких термических поражений / И.С. Колесников, Б.С. Вихриев. – М. 1962. – 177 с.
66. Комарова, Е.А. Особенности свободной кожной пластики ран расщепленным лоскутом в гнойной хирургии: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Комарова Елена Александровна. – Москва, 2009. – 109 с.

67. Копылов, И.М. Опыт применения раневых покрытий fibrotul silkofix в комплексном лечении обширных ожоговых ран / И.М. Копылов // Материалы IV съезда комбустиологов России. – Москва, 2013. – С. 106–108.
68. Крутиков, М.Г. Контроль инфекции в ожоговом стационаре [Электронный ресурс] / М.Г. Крутиков // Комбустиол. – 2003. – № 14. <http://combustiolog.ru/journal/kontrol-infektsii-v-ozhogovom-statsionare/>
69. Крылов, К.М. Современные возможности местного лечения ожогов / К.М. Крылов, П.К. Крылов // Амбул. хир. – 2010. – № 1(37). – С. 30–35.
70. Кубраков, К.М. Этиологическая структура и резистентность основных возбудителей раневой инфекции у пациентов с ожоговой болезнью / К.М. Кубраков, И.А. Ковалёва, А.В. Павленко // Новости хирургии. – 2012. – Т. 20, № 6. – С. 53–59.
71. Кузнецова, М.В. Микробиология нозокомиальной синегнойной инфекции: мониторинг распространенности, биологические особенности возбудителя и новые подходы к диагностике: дис. ... докт. мед. наук: 03.02.03 / Кузнецова Марина Валентиновна. – Пермь, 2014. – 245 с.
72. Куринный, Н.А. Организация медицинской помощи обожженным в краснодарском крае: проблемы и перспективы развития / Н.А. Куринный, В.В. Чайкин, А.В. Поляков, С.Б. Богданов, О.И. Григорьева, О.С. Рыбка // II съезд комбустиологов России. – 2008.
73. Лаврентьева, А. Диагностика и терапия инфекционных осложнений у пострадавших с термической травмой / А. Лаврентьева, И.В. Шлык, В.А. Панафидина // Вестник анестезиологии и реаниматологии – 2014. – № 2. – С. 56–63.
74. Лавров, В.А. Комбустиология: вопросы истории [Электронный ресурс] / В.А. Лавров, А.А. Алексеев // Научно-практический журнал «Комбустиология». – 2000. – № 4. <http://combustiolog.ru/journal/kombustiologya-voprosy-istorii/>
75. Лафи, С.Г. Психологические аспекты ожоговой травмы / С.Г. Лафи. – Омск: ОмГМА, 2014. – 178 с.

76. Логинов, Л.П. Современные принципы местного лечения термических ожогов / Л.П. Логинов // Русс. Мед. журн. – 2012. – №3. – С. 23–25.
77. Лямин, А.В. Методы выявления биопленок в медицине: возможности и перспективы / А.В. Лямин, Е.А. Боткин, А.В. Жестков // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 17–22.
78. Малютина, Н.Б. Сравнительная оценка эффективности различных методов оперативного лечения обожженных пожилого и старческого возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Малютина Наталья Борисовна. – Москва, 2002. – 32 с.
79. Маянский, А.Н. Межвидовое общение бактерий и образование смешанной (полимикробной) биоплёнки / А.Н. Маянский, И.В. Чеботарь, Н.И. Евтеева, Е.И. Руднева // Журн. Микробиол. эпидемиол. иммунобиол. – 2012. – № 1. – С. 93–101.
80. Мензул, В.А. Новые технологии консервативного и оперативного лечения ожогов у детей / В.А. Мензул // Материалы международной конференции, посвященной 70-летию НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе. – Санкт-Петербург, 2002. – С. 363–365.
81. Мензул, В.А. Результаты дерматомной предтрансплантационной резекции грануляционной ткани с аутодермопластикой и субтотальной некрэктомии, как методов хирургической обработки ран в комплексном лечении детей с острой ожоговой травмой / В.А. Мензул, Ю.Н. Проходцов // Материалы Международной научно-практической конференции «Хирургическая обработка ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых». – Москва, 2014. – С. 165-166.
82. Мухин, М.В. Лечение ожогов головы, лица, шеи, и их последствий / М.В. Мухин. – Ленинград: медгиз, 1961. – 163 с.
83. Никитенко, И.Е. Аутодермопластика глубоких термических ожогов с использованием препарата "Вин-фар", содержащего фактор роста фибробластов (экспериментальное исследование): дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Никитенко Иван Евгеньевич – Оренбург, 2012. – 90 с.

84. Николаев, Ю.А. Биопленка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма / Ю.А. Николаев, В.К. Плакунов // Микробиол. – 2007. – № 2. – С. 149–163.
85. Николаева, Н.В. Распространенность и биологические особенности нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Николаева Нина Владимировна. – Пермь, 2011. – 24 с.
86. Ортенберг, Э.А. Ингибиторозащищенные бета-лактамы: место в современных схемах антибактериальной терапии / Э.А. Ортенберг, М.А. Ушакова, И.М. Вешкурцева, М.В. Рожаев // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 393–402.
87. Парамонов, Б.А. Ожоги / Б.А. Парамонов, Я.О. Порембский, В.Г. Яблонский. – С.-Петербург, 2000. – 488 с.
88. Петров, В.И. Свободная пересадка кожи / В.И. Петров. – Л.: Медицина, Лен.отд., 1964. — 145 с.
89. Питерская, Ю.А. Прогнозирование и ранняя диагностика инфекционных осложнений у детей с тяжелой термической травмой на основании изменений про- и антиоксидантного статуса: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.35 / Питерская Юлиана Александровна. – Москва, 2009. – 25 с.
90. Погодин, И.Е. Лечение дермальных ожогов с применением гидрохирургической системы «versajet» и биополимера «реперен» / И.Е. Погодин, М.В Ручин, А.А. Стручков // Хирургия. – 2013. – № 3(27). – С. 120–121.
91. Постников, Б.Н. Термические ожоги / Б.Н. Постников. – Л.: Медицина, 1957. – 235 с.
92. Привольнев, В.В. Основные принципы лечения ран и раневой инфекции / В.В. Привольнев, Е.В. Каракулина // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2011. – Т. 13, № 3. – С. 214–222.
93. Радциг, М.А. Взаимодействие клеток бактерий с соединениями серебра и золота: влияние на рост, образование биопленок, механизмы действия, биогенез наночастиц: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.06 / Радциг Марина Александровна. – Москва. 2013. – 28 с.

94. Розанова, С.М. Сравнительный анализ этиологии и антибиотикорезистентности основных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ различного профиля города Екатеринбурга / С.М. Розанова, В.А. Руднов, Е.Ю. Перевалова // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 410–418.
95. Романова, Ю.М. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и в организме хозяина / Ю.М. Романова, А.Л. Гинцбург // Журн. Микробиол. эпидемиол. иммунобиол. – 2011. – № 3. – С. 99–109.
96. Руднов, В.А. Антибиотикотерапия госпитальных инфекций, вызванных *P. aeruginosa* / В.А. Руднов // Рус. мед. журн. – 2005. – Т. 13, № 7. – С. 3–6.
97. Сатосова, Н.В. Эпидемиология и профилактика инфекций кровотока в отделении ожоговой реанимации и интенсивной терапии: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.02.02 / Сатосова Надежда Викторовна. – Санкт–Петербург, 2012. – 25 с.
98. Соломенный, А.П. Мультиплексная ПЦР-диагностика интегронов резистентности возбудителей нозокомиальной инфекции / А.П. Соломенный, Н.А. Зубарева, А.Е. Гончаров [и др.] // Инф. хирургии. – 2011. – Т.9, № 3. – С. 26–27.
99. Смирнов, С.В. Применение отечественного универсального пенополиуританового покрытия «Локус» для лечения ран, ожогов и ран / С.В. Смирнов, М.В. Шахламов, М.А. Литинский // Пластическая хирургия и косметология. . – 2013. – № 1. – С. 117–124.
100. Спиридонова, Т.Г. Профилактика и лечение гнойно-септических осложнений у тяжелообожженных / Т.Г. Спиридонова, С.В. Смирнов, Л.П. Логинов, В.С.Борисов, Е.А. Жиркова, Е.Б. Лазарева, Т.В. Черненькая, А.А. Рык, И.Н. Полякова, Е.Д.Меньшикова, Д.Э.Бочаров, М.Ю.Каплунова, Е.В.Клычникова, А.И.Баженов, Н.В.Боровкова, Э.А.Береснева, С.В.Шевякова, В.Б.Хватов, М.А.Годков, М.В.Барина // Методические рекомендации (№ 15). М., 2014. – 22 с.

101. Сычевский, М.В. Эффективность модифицированной повязки на основе коллагена типа I при лечении обширных ожоговых ран IIIА степени: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17, 14.01.21 / Сычевский Михаил Витальевич. – Москва, 2010. – 114 с.
102. Тец, В.В. Неизвестные возбудители заболеваний в микрофлоре ротовой полости человека, актуальные для оториноларингологии / В.В. Тец, Г.В. Тец, Д.С. Викина, М.Ф. Вечерковская, В.В. Харламова // Вестник оторинолор. – 2014. – №1. – С. 33–36.
103. Толстов, А.В. Совершенствование способов профилактики и лечения ожоговой инфекции (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Толстов Анатолий Владимирович. – Москва, 2010. – 25 с.
104. Тюрников, Ю.И. Классификация методов активной хирургической подготовки глубоких ожогов к пластическому закрытию в системе раннего хирургического лечения обожженных [Электронный ресурс] / Ю.И. Тюрников, Евтеев А.А. // // Комбустиол. – 2000. – №4. <http://combustiology.ru/journal/klassifikatsiya-metodov-aktivnoj-hirurgicheskoj-podgotovki-glubokih-ozhogov-k-plasticheskomu-zakry-tiyu-v-sisteme-rannego-hirurgicheskogo-lecheniya-obozhzhenny-h/>
105. Уракова, Д.С. Морфологическое и бактериологическое обоснование выбора способа некрэктомии в клинике и эксперименте: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Уракова Диана Сергеевна. – Москва, 2010. – 96 с.
106. Федеральные клинические рекомендации по оказанию скорой медицинской помощи при ожогах у детей / А.А. Баранов, С.Ф. Багненко, Л.С. Намазова-Баранова, И.В. Поддубный, А.Л. Егоров, Е.Ю. Дьяконова // Москва. – 2015. – 13 с.
107. Федоров, В.Д. Хирургические инфекции: современное состояние проблемы в России [Электронный ресурс] / В.Д. Федоров, Н.А. Ефименко // Медицинский онлайн журнал для врачей и пациентов. – 2012. <http://www.medcom.spb.ru/publ/info/1258>
108. Федоров, В.Д. История, проблемы и современные методы хирургического лечения обожженных [Электронный ресурс] / В.Д. Федоров, А.А. Алексеев, М.Г.



- Крутиков // Научно-практический журнал «Комбустииология». – 1999. – №1.  
<http://combustiolog.ru/journal/istoriya-problemy-i-sovremennyye-metody-hirurgicheskogo-lecheniya-obozhzhennykh/>
109. Харитонов, С.В. Современные методы лечения ожоговых ран / С.В. Харитонов, В.А. Королев, А.В. Тараканов // Рос. научно-практический журн. «Скорая медицинская помощь». – 2006. – Т. 7, № 3. – С. 133–134.
110. Харитонов, Ю.М. Новые технологии в лечении больных одонтогенной гнойной инфекцией / Ю.М. Харитонов, И.С. Фролов // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 7. – С. 582–584.
111. Худяков, В.В. Хирургическая обработка гранулирующих ожоговых ран // автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Худяков Василий Викторович. – Москва, 2005. – 26 с.
112. Чеботарь, И.В. Биопленки *Staphylococcus aureus* структурно-функциональные характеристики и взаимоотношения с нейтрофилами // дис. ... док. мед. наук: 03.02.03 / Чеботарь Игорь Викторович. – Нижний Новгород, 2014. – 239 с.
113. Чеботарь, И.В. *Acinetobacter*: микробиологические, патогенетические и резистентные свойства / И.В. Чеботарь, А.В. Лазарева, Я.К. Масалов, В.М. Михайлович, Н.А. Маянский // Актуальные вопросы микробиол. – 2014. – № 9–10. – С. 39–50.
114. Чеботарь, И.В. Новый метод исследования антибиотикорезистентности бактериальных биоплёнок / И.В. Чеботарь, Н.А. Маянский, Е.Д. Кончакова // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 303–308.
115. Чернышев, С.Н. Применение перевязочных средств silkofix professional в консервативном лечении ожоговых ран // Сборник тезисов конференции «Актуальные вопросы лечения термической травмы». – 2015.
116. Чернявский, А.М. Инфекции в кардиохирургии / А.М. Чернявский, А.Р. Таркова, Т.М. Рuzматов, С.В. Морозов, И.А. Григорьев // Хирургия Журн. им. Н.И. Пирогова. – 2016. – № 5. – С. 64–68.

117. Чмырёв, И.В., Использование Пронтосана после поздней некрэктомии при глубоких ожогах / И.В. Чмырёв, Ю.Р. Скворцов, С.Х. Кичемасов // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2010. – Т. 5, № 2. – С. 49–54.
118. Шаблин, Д.В. Экспериментальное обоснование применения пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом для лечения ран (экспериментальное исследование): дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Шаблин Дмитрий Валерьевич. – Нальчик, 2014. – 161 с.
119. Шайхутдинова, А.Р. Механизмы модуляции работы рецепторно-канального комплекса хлоргексидином / А.Р. Шайхутдинова // Доклады академии наук. – 2005. – Т. 402. – С. 427–429.
120. Шалимов, А.А. Инфекционный контроль в хирургии / А.А. Шалимов, В.В. Грубник, А.И. Ткаченко, О.В. Осипенко, О.В. Четвериков. – Киев: Здоров'я, 2001. – 162с.
121. Шаталова, Е.В. Взаимное влияние возбудителей при смешанной инфекции ожоговой травмы / Е.В. Шаталова, Бельский В.В. // Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол. – 1999. – № 4. – С. 3–7.
122. Шехтер, А.Б. Морфологическая оценка эффективности нового метода лечения ожогов у детей / А.Б. Шехтер, В.А. Мензул, Т.Г. Руденко, Л.И. Герасимова // Материалы Международного конгресса «Комбустиология на рубеже веков». – Москва, 2000. – С. 63-64.
123. Шипицына, И.В. Биопленкообразующая способность выделенных из ран больных хроническим остеомиелитом штаммов *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* и их ассоциаций, полученных *in vitro* / И.В. Шипицына, Е.В. Осипова // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 11. – С. 18–21.
124. Эйдельштейн, М.В. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих металло-β-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане / М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова, О.В. Шевченко [и др.] // Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2012. – Т.14, № 2. – С. 132–152.

125. Юрова, Ю.В. Диагностика готовности гранулирующих ожоговых ран к свободной аутодермопластике: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Юрова Юлия Васильевна. – С–Петербург, 2014. – 24 с.
126. Юхин, Л.С. Подготовка ожоговых ран к кожной пластике: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Юхин Леонид Семенович – Рига, 1970. – 24 с.
127. Яковлев, С.В. Многоцентровое открытое рандомизированное исследование меропенема в сравнении с комбинацией цефтазидима и амикацина при тяжелых госпитальных инфекциях / С.В. Яковлев, В.П. Яковлев, И.И. Деревянко [и др.] // Антиб. химиотер. – 1998. – Т. 43, № 1. – С. 15–23.
128. Ярец, Ю.И. Мониторинг штаммов и лекарственной чувствительности микроорганизмов Гомельского областного центра термической травмы, ран, раневой инфекции и реконструктивной хирургии / Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко, Л.Н. Рубанов // Инф. хирургии. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 8–11.
129. Adil, S.O. Pattern of unintentional burns: A hospital based study from Pakistan / S.O. Adil, E. Ibran, N. Nisar, K. Shafique // J. Burns. – 2016. – V. 42. – I. 6. – P. 1345–1349.
130. Agarwal, A. Medical significance and management of staphylococcal biofilm / A. Agarwal, K.P. Singh, A. Jain // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2010. – V. 58. – P. 147–160.
131. Agnihotri, N. Aerobic bacterial isolates from burn wound infections and their antibiograms—a five-year study / N. Agnihotri, V. Gupta, R.M. Joshi // J. Burns. – 2004. – V. 30. – I. 3. – P. 241–243.
132. Akter, F. The role of hydrogen sulfide in burns / F. Akter // J. Burns. – 2016. – V. 42. – I. 3. – P. 519–525.
133. Alharbi, S.A. Antibacterial susceptibility of bacteria isolated from burns and wounds of cancer patients / M.E. Zayed // J. of Saudi Chemical Society. – 2014. – V. 18(1). – С. 3–11.
134. Andriessen, A.E. Assessment of a wound cleansing solution in the treatment of problem wounds / A.E. Andriessen, T. Eberlein // J. Wounds. – 2008. – V. 20. – N. 6. – P. 171–175.

135. Artz, C.P. Early grafting of the Burn Patient / C.P. Artz // J. med. Ass. Georgia. – 1960. – V. 49. – T. 3. – P.95–98.
136. Atiyeh, B.S. Burn prevention mechanisms and outcomes: Pitfalls, failures and successes / B.S. Atiyeh, M. Costagliola, S.N.Hayek // J. Burns. – 2009. – Vol. 35. – I. 2. – P. 181–193.
137. Bahemia, I.A. Microbiology and antibiotic resistance in severe burns patients: A 5 year review in an adult burns unit / I.A. Bahemia, A. Muganza, R. Moore, F. Sahid, C.N. Menezes // J. Burns. – 2015. – V. 41. – I. 7. – P. 1536–1542.
138. Barah, F. Non-antibiotic biocides: an updated review / F. Barah // Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education (A. Méndez-Vilas, Ed.). Badajoz, Spain, Formatex Research Centre. – 2013. – P. 598–607.
139. Barret, J.P. Burn wound excision with hydrosurgery: Initial experience / J.P. Barret // Injury Extra. – 2006. – V. 37. – I. 5. – P. 187–189.
140. Bertrand, X. Antimicrobial susceptibility among gram-negative isolates collected from intensive care units in North America, Europe, the Asia-Pacific Rim, Latin America, the Middle East, and Africa between 2004 and 2009 as part of the Tigecycline evaluation and surveillance trial / X. Bertrand // Clin. Ther. – 2012. – V. 34. – P. 124–137.
141. Bester, E. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates / E. Bester [et al.] // Appl. environ. microbiol. – 2010. – Vol. 76, №4. – P. 1189-1197.
142. Bishara, S. Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature / S. Bishara // J. Burns. – 2007. – V. 33. – I. 2. – P. 139–48.
143. Bjarnsholt, T. Why chronic wounds won't heal: a novel hypothesis / T.K. Bjarnsholt, Kirketerp-Moller, P. Jensen [et al.] // Wound Repair and Regeneration. – 2008. – №. 16. – P. 1–10.
144. Blango, M.G. Persistence of uropathogenic Escherichia coli in the face of multiple antibiotics / M.G. Blango, M.A. Mulvey // Antimicrob. agents chemother. – 2010. – V. 54, N. 5. – P. 855–1863.

145. Bonez, P.C. Chlorhexidine activity against bacterial biofilms / C.F. Dos Santos Alves, T.V. Dalmolin, V.A. Agertt, C.R. Mizdal, C. Flores Vda [*et al.*] // *Am. J. Infect. Control.* – 2013. – V. 41(12). – P. 119–122.
146. Bousema, S. Epidemiology and screening of intentional burns in children in a Dutch burn centre / S. Bousema, G. H. Stas, H. M. Merwe [*et al.*] // *J. Burns.* – 2016. – V. 42. – I. 6. – P. 1287–1294.
147. Chiang, W.C. The metabolically active subpopulation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms survives exposure to membrane-targeting antimicrobials via distinct molecular mechanisms / W.C. Chiang, S.J. Pamp, M. Nilsson, M. Givskov, T. Tolker-Nielsen // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2012. – V. 65. – P. 245–256.
148. Choi, A.H. The *pgaABCD* locus of *Acinetobacter baumannii* encodes the production of poly-beta-1-6-N-acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation / L. Slamti, F.Y. G.B. Avci, P. Litran // *J. Bacteriol.* – 2009. – V. 191. – 5953–5963.
149. Chung, Y.K. Effect of daily chlorhexidine bathing on acquisition of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) in the medical intensive care unit with CRAB endemicity / Y.K. Chung, [*et al.*] // *Am. J. Inf. Control.* – 2015. – V. 43(11). – P. 1171–1177.
150. Clarke, S.R. Surface adhesins of *Staphylococcus aureus* / S.R. Clarke, S.J. Foster // *Adv. Microb. Physiol.* – 2006. – N. 51. – P. 187–224.
151. Costerton, W. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections / W. Costerton, R. Veeh, M. Shirtliff, M. Pasmore, C. Post, G. Ehrlich // *J. Clin. Invest.* – 2003. – V. 112. – P. 1466–1477.
152. Danel, F. OXA-14, another extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* / F. Danel, L.M. Hall, D. Gur, D.M. Livermore // *Antimicrob. Agents. Chemother.* – 1995. – P. 1881–1884.
153. Delli, S.G. Versajet hydrosurgery: 7 years of experience in adults and pediatric patients (p196) / S.G. Delli, M. Palombo, P. Carni, M. Cempanari, M. Floris, M. Schirosi, C. Maestrini, P. Palombo // *Annals of Burns and Fire Disasters.* – 2015. – V. 28. – Published online 2015 Sep 30.

154. Duteille, F. Management of 2nd-degree facial burns using the Versajet<sup>®</sup> hydrosurgery system and xenograft: A prospective evaluation of 20 cases / F. Duteille, P. Perrot // *J. Burns.* – 2012. – V. 38(5). – P. 724–729.
155. Fadeyibi, I.O. Bacteriology of infected burn wounds in the burn wards of a teaching hospital in Southwest Nigeria / I.O. Fadeyibi, M.A. Raji, N.A. Ibrahim, A.O. Uguro, S. Ademiluyi // *J. Burns.* – 2013. – V. 39(1). – P. 168–173.
156. Fagan, S.P. Burn Intensive Care / S.P. Fagan, M. Bilodeau, J. Goverman // *Surgical Clinics of North America Management of Burns.* – 2014. – V. 94(4). – P. 765–779.
157. Farshadzadeh, Z. Spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes of *bla*<sub>OXA-10</sub>, *bla*<sub>PER-1</sub> and *bla*<sub>CTX-M</sub> in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients / Z. Farshadzadeh, A.D. Khosravi, S.M. Alavi, N. Parhizgari, H. Hoveizavi // *J. Burns.* – 2014. – V. 40(8). – P. 1575–1580.
158. Filloux, A. Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: an essay on diversity, evolution and function / A. Filloux // *Front. Microbiol.* – 2011. – V. 2. – P. 155.
159. Fournier, P.E. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* / P.E. Fournier, D. Vallenet, V. Barbe, [et al.] // *PLOS Genet.* – 2006. – V. 2(1). – P. 62–72.
160. Fournier, A. Antibiotic consumption to detect epidemics of *Pseudomonas aeruginosa* in a burn centre: A paradigm shift in the epidemiological surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infections / A. Fournier, P. Voirol, M. Krähenbühl, C.L. Bonnemain, C. Fournier, O. Pantet [et al.] // *J. Burns.* – 2016. – V. 42(3). – P. 564–570.
161. Frank, D.W. The exoenzyme S regulon of *Pseudomonas aeruginosa* / D.W. Frank // *Mol. Microbiol.* – 1997. – V. 26. – P. 621–629.
162. Franséna, J. Surveillance of antibiotic susceptibility in a Swedish Burn Center / J. Franséna, F.R.M. Husa, L.E. Nilsson, U. Rydelld, F. Sjöberge, H. Hanberg 1994–2012 // *J. Burns.* – 2016. – V. 38(8). – P. 1192–1197.

163. Friedstat, J.S. Acute Management of Facial Burns / J.S. Friedstat, B.K. Matthew // *J. Burns.* – 2009. – V. 36(4). – P. 653–660.
164. Frieri, M. Wounds, burns, trauma, and injury / K. Kumar, A. Boutin // *Wound Medicine.* – 2016. – V. 13. – P. 12–17.
165. Fugère, A. Interspecific small molecule interactions between clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* from adult cystic fibrosis patients / D. Lalonde Séguin, G Mitchell, E. Déziel, V. Dekim, A.M. Cantin, [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – T. 23. – V. 9(1). – P. e86705.
166. Gittings, P.M. The Lower Limb Functional Index – A reliable and valid functional outcome assessment in burns / P.M. Gittings, N. Heberlien, N. Devenish, M. Parker [et al] // *J. Burns.* – 2016. – V. 42(6). – P. 1233–1240.
167. Gotz, F. *Staphylococcus* and biofilms / F. Gotz // *Mol. Microbiol.* –2002. – Vol. 43, N 6. – P. 1367–1378.
168. Halsteda, F.D. Antimicrobial dressings: Comparison of the ability of a panel of dressings to prevent biofilm formation by key burn wound pathogens / F.D. Halsteda, M. Raufa, A. Bamforda, C. M. Wearna, J.R.B. Bishopb, R. Burta, A.P. Fraisea, N.S. Moiemena, B.A. Oppenheima, M.A. Webberb // *J. Burns.* – 2015. – V. 41. – I. 8. – P. 1683–1694.
169. Hautier, A. Surgical treatment of acute burns and post burn skin contractures / A.P. Hautier, Ainaud, V. Bernini // *J. Annals of Physical and Rehabilitation Medicine.* – 2014. – V. 57. – P. 212–214.
170. Hebeish, A. Antimicrobial wound dressing and anti-inflammatory efficacy of silver nanoparticles / A. Hebeish, M.H. El-Rafie, M.A. EL-Sheikh, A.A. Seleem [et al] // *Int. J. Biol. Macromolecules.* – 2014. – V. 65. – P. 509–515.
171. Høiby, N. The clinical impact of bacterial biofilms / N.O.Høiby, O. Ciofu, H.K. Johansen, Z.J. Song, C. Moser, P.Ø. Jensen [et al.] // *Int J Oral Sci.* – 2011. – V. 3(2) – P. 55–65.
172. Hall, L.M.C. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE- 2)  $\beta$ -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* / L.M.C. Hall, D.M. Livermore, D. Gur [et al.] // *Antimicrob. Agents. Chemother.* – 1993. – V.37. – P. 1637–1644.

173. Howard, A. *Acinetobacter baumannii* an emerging opportunistic pathogen / A. Howard, M. O'Donoghue, A. Feeney, R.D. Sleator // *Landes Bioscience*. – 2012. – P. 243–250.
174. Huang, G. Epidemiological characterization of *Acinetobacter baumannii* bloodstream isolates from a Chinese Burn Institute: A three-year study / G. Huang, S. Yin, L. Xiang, Y. Gong, K. Sun, X. Luo, C. Zhang // *J. Burns*. – 2016. (Available online 7 September)
175. Hübner, N.O. Review on the efficacy, safety and clinical applications of polihexanide, a modern wound antiseptic / N.O. Hübner, A. Kramer // *Skin Pharmacol. Physiol.* – 2010. – V. 23. – P. 17–27.
176. Huey, B. Hypervariable DNA fingerprinting in *Escherichia coli*: minisatellite probe from bacteriophage M13 / B. Huey, J. Hall // *J. Bacteriol.* – 1989. – V. 171. – N.5. – P. 2528–2532.
177. Hyland, E.J. Prospective, randomised controlled trial comparing Versajet™ hydrosurgery and conventional debridement of partial thickness paediatric burns / E.J. Hyland, R.D'Cruza, S. Menona, Q.G. Chana, J. Harveya, T. Lawrencea, E. La Heia, A. Hollanda // *J. Burns*. – 2015. – V. 41(4). – P. 700–707.
178. Jabalameli, F. Evaluation of biofilm production and characterization of genes encoding type III secretion system among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients / F. Jabalameli, A. Mirsalehian, B. Khoramian, M. Aligholi, S.S. Khoramrooz, P. Asadollahi, M. Taherikalani, M. Emaneini // *J. Burns*. – 2012. – V. 38(8). – P. 1192–1197.
179. Jakobsen, T. Qualitative and quantitative determination of quorum sensing inhibition *in vitro*. Quorum sensing: methods and protocols / M. Gennip, L. Christensen [et al.] // *Methods in Molecular Biology*. – 2011. – V. 692. –P. 253–263.
180. Jeffery, S.L.A. Device related tangential excision in burns / S.L.A. Jeffery // *Injury*. – 2007. – V. 38(5). – P. S34–S37.
181. Kennedy, P. Burns, biofilm and a new appraisal of burn wound sepsis / P. Kennedy, S. Brammahb, E. Willsb // *J. Burns*. – 2010. – V. 36(1). – P. 49–56.



182. Kosa, A. Prontosan Study Report: Determination of the effects of Prontosan irrigation solution on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* biofilms in a partial thickness porcine wound model // Department of Dermatology and Cutaneous Surgery Wound Healing Research Laboratory. – 2007.
183. Krezdorn, N. Biobrane versus topical agents in the treatment of adult scald burns / S. Könniker, F.J. Paprottka, C. Tapking // Available online 7 August – 2016.
184. Lavrentieva, A. Critical care of burn patients. New approaches to old problems / A. Lavrentieva // J. Burns. – 2016. – V. 42(1). – P. 13–19.
185. Lewis, K. Multidrug tolerance of biofilms and persister cells / K. Lewis // Curr. Microbiol. Immunol. – 2008. – V.322. – P. 107–131.
186. Luja´n, A.M. Quorum-sensing-deficient (*lasR*) mutants emerge at high frequency from a *Pseudomonas aeruginosa* mutS strain / A.M. Luja´n [*et. al.*] // Microbiology. – 2007. – №153. – P. 225–237.
187. Maan, Z.N. Burns ITU admissions: Length of stay in specific levels of care for adult and paediatric patients / Z.N. Maan, Q. Frew, A.H. Din, Z. Unluer [*et al*] // J. Burns. – 2014. – V. 40(8). – P. 1458–1462.
188. Macomber, W.P. Further evolution of improved skin grafting technique for extensive third degree burns / W.P. Macomber, K.H. Wang, A. Versaci // Plast. Reconstr. Surg. – 1958. – V. 4. – P. 254–262.
189. Marioni, G. Deepneck abscess due to *Acinetobacter baumannii* infection / R. Marchese-Ragona, C. Boldrin, [*et al*] // Am. J.Otolaryngol. – 2010. – V. 31(4). – P. 304–307.
190. Mayhall, C.G. The epidemiology of burn wound infections: Then and Now / C.G. Mayhall, // Healthcare epidemiol. – 2003. – V. 37. – P. 543–550.
191. Mehta, M. Bacterial isolates from burn wound infections and their antibiograms: A eight-year study / M. Mehta, P. Dutta, V. Gupta // Indian J. Plast. Surg. – 2007. – V. 40(1). – P. 25–28.
192. Mengi, S. Biofilms: a diagnostic challenge in persistent infections / S. Mengi, P. Vohra, N. Sawhney, V.A. Singh // Int J of Research in Medical and Health Sciences. – 2013. – V. 2(3). – P. 22–27.

193. Michal, G. Epidemiology of burns in the United Arab Emirates / O. Hani // J. Burns. – 2014. – V. 40(3). – P. 500–505.
194. Mogilnaya, O.A. Biofilm formation by bacterial associations under various salinities and cooper ion stress / T.I. Lobova, T.V. Kargatova, L.Y. Popova // Biofoulin. – 2005. – T. 21. – V. 5(6). – P. 247–255.
195. Montazeri, E.A. Identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from burn patients by multiplex PCR / E.A. Montazeri, A.D. Khosravi, A. Jolodar, M. Ghaderpanah, S. Azarpira // J. Burns. – 2015. – V. 41. – I. 3. – P. 590–594.
196. Moons, P. Bacterial interactions in biofilms / P. Moons [*et. al.*] // Crit. Rev. Microbiol. – 2009. – V. 35, № 3. – P. 157–168.
197. Mulcahy, L.R. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in disease / L.R. Mulcahy, V.M. Isabella, K. Lewis // Microb. Ecol. – 2013. – V. 6. – P. 76–79.
198. Müllera, G. Interaction of polyhexamethylenebiguanide hydrochloride (PHMB) with phosphatidylcholine containing o/w emulsion and consequences for microbicidal efficacy and cytotoxicity / G. Müllera, T. Koburgerb, A. Kramer // Chemico-Biological Interactions. – 2013. – V. 201(1–3). – P. 58–64.
199. Nelson, J.M. Versajet usage algorithm / J.M. Nelson // Smith & Nephew. – 2006.
200. Oncul, O. Prospective analysis of nosocomial infections in a burn care unit, Turkey / O. Oncul, E. Ulkur, A. Acar [*et al.*] // Ind. J. Med. Res. – 2009. – V. 130, N 6. – P. 758–764.
201. Oncula, O. Nosocomial infection characteristics in a burn intensive care unit: Analysis of an eleven-year active surveillance / O. Oncula, S. Oksuzb, A. Acara, E. Ulkurb, V. Turhana, F. Uygurb, A. Ulçaya, H. Erdema, M Ozyurtc., L. Goreneka // J. Burns. – 2014. – Vol. 40. – I. 5.– P. 835–841.
202. O'Toole, G.F. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development / G.F. O'Toole, R. Kolter // Mol. Microbiol. – 1998. – V. 30. – P. 295–304.

203. Pamp, S.J. Insight into the microbial multicellular lifestyle via flow-cell technology and confocal microscopy / S.J. Pamp, C. Sternberg, T. Tolker-Nielsen // *J. Cytometry*. – 2008. – V. 75(2). – P. 90–103.
204. Pauline, D.H. Skin stretching for primary closure of acute burn wounds / D.H. Pauline, C.T. Monica, B.A. Martijn [*et al.*] // *J. Burns*. – 2014. – V. 40(8). – P. 1727–37.
205. Percival, S.L. The antimicrobial efficacy of silver on antibiotic-resistant bacteria isolated from burn wounds / S.L. Percival, J. Thomas, S. Linton [*et al.*] // *Inf. Wound J.* – 2012. – V. 9, N. 5. – P. 488–493.
206. Perez, R. Effect of different wound rinsing solutions on MRSA biofilm in a porcine wound model / R. Perez, S.C. Davies, K. Kaehn // *Wund Management*. – 2010. – V. 4. – N. 2. – P. 44–48.
207. Petriuk, B.V. The Changes of Burned Wounds Microbiocenosis Under Intratissue Electrophoresis of Antibacterial Remedies / B.V. Petriuk, R.I. Sydorchuk, O.Y. Khomko, L.P. Sydorchuk, T.A. Petriuk, B.O. Khomko // *European J. of Medicine*. – 2015. – V.7(1). – P. 29–33.
208. Piatkowski, A. Randomized controlled single center study comparing a polyhexanide containing bio-cellulose dressing with silver sulfadiazine cream in partial-thickness dermal burns / A. Piatkowski, N. Drummer, A. Andriessen, D. Ulrich, N. Pallua // *J. Burns*. – 2011. – V. 37(5). – P. 800–804.
209. Pompermaier, L. Long-term survival after burns in a Swedish population / L. Pompermaier, I. Steinvall, M. Fredrikson, J. Thorfinn, F. Sjöberg // *J. Burns* – 2016. – Available online 6 September 2016
210. Pruitt, B.A. Burn wound infections: Current status / A.T. McManus, S.H. Kim [*et al.*] // *World J. Surg.* – 1998. – V. 22(2). – P. 135–145.
211. Rennekampff, H.O. Debridement of burn wounds with a water jet surgical tool / H.O. Rennekampff, H.E. Schallera, D. Wisserb, M. Tenenhausc // *J. Burns*. – 2006. – V. 32(1). – P. 64–69.
212. Rodriguez-Bano, J. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications / J. Rodriguez-Bano, S. Marti, S. Soto, F. Fernandez–

- Cuenca, J.M. Cisneros, J. Pachon, A. Pascual, L. Martínez-Martínez, C. McQueary, L.A. Actis, J. Vila / Clin. Microbiol. Infect. – 2008. – V. 14(3). – P. 276–278.
213. Roth, B. Polihexanide for Wound Treatment – How It Began / B. Roth, F.H.H. Brill // Skin Pharmacol. Physiol. – 2010. – V. 23(1). – P. 4–6.
214. Russo, T.A. The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor / N.R. Luke, J.M. Beanan, R. Olson, S.L. Sauberan, U. MacDonald, L.W. Schultz, T.C. Umland, A.A. Campagnari // Infect. Immun. – 2010. – V. 78(9). – P. 3993–4000.
215. Sayaka, O. Increased wound pH as an indicator of local wound infection in second degree burns / O. Sayaka, I. Ryutro, I. Yukiko, S. Dai, K. Takako, M. Hajime // J. Burns. – 2015. – V. 41(4). – P. 820–824.
216. Schmidt, M.A. Die Grundsätze der plastischen Deckung grosser Verbrennungsdefekte / M.A. Schmidt // Hefte Unfallh. – 1962. – V. 71. – S. 46–58.
217. Seipp, H.M. Biofilm, fibrin, resistance: antibacterial measures with a focus upon polihexanide. In: Polihexanide – an antimicrobial substance with various properties – for critical colonised or local infected wounds / H.M. Seipp, A. Korber // Lohmann & Rauscher. – 2008.
218. Sepandj, F. Olson M. Minimum inhibitory concentration (MIC) versus minimum biofilm eliminating concentration (MBEC) in evaluation of antibiotic sensitivity of gram-negative bacilli causing peritonitis / F. Sepandj, .H. Ceri, A Gibb, R. Read // Perit. Dial. Int. – 2004. – V. 24(1). – P. 65–67.
219. Sherren, P.B. Lethal triad in severe burns / P.B. Sherren, J. Hussey, R. Martin, T. Kundishora, M. Parker [et al] // J. Burns. – 2014. – V. 40(8). – P. 1492–1496.
220. Shi, L. Limits of propidium iodide as a cell viability indicator for environmental bacteria / L. Shi, S. Günther, T. Hübschmann, L.Y. Wick, H. Harms, S. Müller // J. Cytometry. – 2007. – V.71(8). – P. 592–598.
221. Sievert, D.M. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention National Healthcare Safety Network (NHSN) Team and Participating NHSN Facilities 2009-2010 / D.M. Sievert,

- P. Ricks, J.R. Edwards, A. Schneider, J. Patel, A. Srinivasan, A. Kallen, B. Limbago, S. Fridkin // *Infect Control Hosp Epidemiol.* – 2013 – V. 34(1). – P. 1–14.
222. Silva, K.A. Molecular characterization of multidrug-resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa* isolated in a burn center / K.A. Silva, M.A. Calomino, G. Deutsch // *J. Burns.* – 2016. – V. 41. – I. 3. – P. 590–594.
223. Singh, R. Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms / R Singh, P. Ray, A. Das [*et al.*] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2010. – V. 65. – P. 1955–1958.
224. Smith, K. Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates / K. Smith, I.S. Hunter // *J. Med. Microbiol.* – 2008. – V. 57(8). – P. 966–973.
225. Song, G. Experience and efficacy of surgery for retaining viable subcutaneous tissue in extensive full-thickness burns / G. Song, J. Jia, Y. Ma, W. Shi, F. Wang, P. Li, C. Gao, H. Zuo, C. Fan, N. Xin, Q. Wu, Y. Shao // *J. Burns.* – 2016. – V. 42(1). – P. 71–80.
226. Stewart, P.S. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms / P.S. Stewart // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2002. – V. 292. – P. 107–113.
227. Stone, G.G. Detection of *Salmonella* serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure / G.G. Stone, R.D. Oberst, M.P. Hays, S. McVey [*et al.*] // *J. Clin. Microbiol.* – 1994. – V. 32. – P. 1742–1749.
228. Taj, Y. Study on biofilm-forming properties of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* / Y. Taj, F. Essa, F. Aziz, S.U. Kazmi // *J. Infect. Dev. Ctries.* – 2012. – V. 6(5). – P. 403–409.
229. Tenenhaus, M. Treatment of deep partial thickness and indeterminate depth facial burn wounds with water-jet debridement and a biosynthetic dressing / M. Tenenhaus, D. Bhavsara, H.O. Rennekampff // *J. Injury.* – 2007. – Vol. 38(5). – P. S38–S44.
230. Tissot, F. New genotyping method discovers sustained nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in an intensive care burn unit / F. Tissot, D.S. Blanc, P. Basset, G. Zanetti [*et al.*] // *J. Hosp. Inf.* – 2016. – V. 94(1). – C. 2–7.

231. Tomaras, A.P. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system / A.P. Tomaras, C.W. Dorsey, R.E. Edelman, L.A. Actis // *Microbiol.* – 2003. – V. 149. – P. 3473–3484.
232. Touzel, R.E. Establishment of a multi-species biofilm model to evaluate chlorhexidine efficacy / R.E. Touzel, J.M. Sutton, M.E. Wand // *J. Hosp. Inf.* – 2016. – V. 92(2). – P. 154–160.
233. Vallis, A.J. Biological effects of *Pseudomonas aeruginosa* type III-secreted proteins on CHO cells / A.J. Vallis, V. Finck-Barbancon, T.L. Yahr, D.W. Frank // *Infect. Immun.* – 1999. – V. 67(4). – P. 2040–2944.
234. Velázquez, J. Anti-biofilm and cytotoxicity activity of impregnated dressings with silver nanoparticles / A. Santos-Flores, J. Araujo-Meléndez, R. Sánchez-Sánchez, C. Velasquillo, C. González, G. Martínez-Castañon, F. Martinez-Gutierrez // *Materials Science and Engineering.* – 2015. – V. 49. – P. 604–611.
235. Vergara-Irigaray, M. Wall teichoic acids are dispensable for anchoring the PNAG exopolysaccharide to the *Staphylococcus aureus* cell surface / M. Vergara-Irigaray [*et. al.*] // *Microbiology.* – 2008. – N. 154. – P. 865–877.
236. Vindenes, H. Microbial colonization of large wounds / H. Vindenes, R. Bjerknes // *J. Burns.* – 1995. – V. 21. – P. 575–579.
237. Vu, B. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation / B. Vu [*et. al.*] // *Molecules.* – 2009. – V. 14, №7. – P. 2535–2554.
238. Watkins, R.R. Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // R.R. Watkins, M.Z. David, R.A. Salata // *J. Med. Microbiol.* – 2012. – V. 61. – P. 1179–1193.
239. Wisplinghoff, H. Molecular epidemiology of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates from Europe and the U.S. using a new MLST scheme / H. Wisplinghoff, C. Hippler, S. Bartual, F. Rodriguez-Valera, C. Haefs, D. Stefanik, H. Seifert // 45th ICAAC. – 2006. – Abstract C2–1428, P. 126.
240. Wolf, S.E. The year in burns 2013 / S.E. Wolf, H.A. Phelan, B.D. Arnoldo // *J. Burns.* – 2016. – V. 40(8). – P. 1421–1432.

241. Wolska, K. BOX-PCR is an adequate tool for typing of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates / K. Wolska, B. Kot, A. Jakubczak [et al.] // *Fol. Histochem. Cytobiol.* – 2011. – V. 49, N. 4. – P. 734–8.
242. Wong, E.G. Burns in Sierra Leone: A population-based assessment / E.G. Wong, R.S. Groen, T.B. Kamara, K.A. Stewart, L.D. Cassidy [et al.] // *J. Burns.* – 2014. – V. 40(8). – P. 1748–1754.
243. Wright, C.J. Application of AFM from microbial cell to biofilm / C.J. Wright, I. Armstrong, M.K Shah, L.C. Powell // *Scanning.* – 2010. – V. 32(3). – P. 134–149.
244. Xianchao, D. A Randomized comparison study of Aquacel Ag and Alginate Silver as skin graft donor site dressings / D. Xianchao, L. Shi, C. Liu, B. Sun // *J. Burns.* – 2013. – V. 39(8). – P. 1547–1550.
245. Yahr, T.L. Transcriptional analysis of the *Pseudomonas aeruginosa* exoenzyme S structural gene/ T.L. Yahr, A.K. Hovey, S.M. Kulich, D.W. Frank // *J. Bacteriol.* – 1995. – V. 177(5). – P. 1169–1178.
246. Yang, F. Pathogenic alteration in severe burn wounds / F. Yang, X. Bing, D.B. Feng [et al.] // *J. Burns* – 2012. – V. 38. – I.1. – P. 90–94.
247. Yang, L. Pattern differentiation in co-culture biofilms formed by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* / Y. Liu, T. Markussen, N. Høiby, T. Tolker-Nielsen, S. Molin // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2011. – V. 62. – P. 339–347.
248. Yao, Y. Genome wide Analysis of Gene Expression in *Staphylococcus epidermidis* Biofilms: Insights into the Pathophysiology of *S. epidermidis* Biofilms and the Role of Phenol-Soluble Modulins in Formation of Biofilms / Y. Yao [et. al.] // *J. of Inf. Dis.* – 2005. – N. 191. – P. 289–298.
249. Yun, H.C. A single-center, six-year evaluation of the role of pulsed-field gel electrophoresis in suspected burn center outbreaks / H.C. Yun, C.C. Tully, K. Mende, M. Castillo, C.K. Murray // *J. Burns.* – 2016. – V. 42(6). – P. 1323–1330.
250. Zhou, Z. Wound management with vacuum assisted closure in surgical site infection after ankle surgery / Z. Zhou, Y. Liu, H. Chen, F. Liu // *Int. J. of Surgery.* – 2015. – P. 15–18.