

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Еньчевой Юлии Абыталиновны «Эффективность комбинированного хирургического лечения ожогов III степени» по специальностям: 14.01.17-хирургия и 03.02.03-микробиология на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

1. Актуальность темы. Прогрессирующий урбанистический образ жизни, разработка новых источников энергии и широкое внедрение созданных на их основе устройств в повседневный быт повышает опасность получения ожоговой травмы. Рост числа пострадавших от ожогов, увеличение их удельного веса в структуре травматизма, длительное и дорогостоящее лечение, высокий процент летальности и инвалидности определяют ожоговую травму как одну из наиболее актуальных проблем современной медицины (Азолов В.В. с соавт., 1990; Жегалов В.А. с соавт., 2004; Алексеев А.А., Лавров В.А., 2008; Воробьев А.В. с соавт., 2008, Алексеев А.А. и соавт., 2009). Исходы ожоговой травмы во многом зависят от глубины ожога, его площади, локализации и возраста больного. Важную роль играет адекватная комплексная программа проводимого лечения. Появление новых медицинских технологий в лечении ожоговой травмы должно способствовать снижению летальности среди тяжелообожженных и их успешной реабилитации (Азолов В.В. с соавт., 2001).

Нарушение целостности кожных покровов благоприятствует развитию раневой инфекции, вызванной, чаще всего, условно патогенными штаммами микроорганизмов, обладающих антибиотикоустойчивостью. Важным аспектом в плане диагностики и лечения ожоговой инфекции является микробиологическое обследование больного, где наибольшее значение имеет показатель микробной обсемененности раны. По мнению многих исследователей, контроль критического уровня обсемененности раневой поверхности необходим для определения показаний к операции и выбора антибактериальных препаратов. Одним из основных методов лечения ожоговой раны является местное воздействие антисептиками, обуславливающим предупреждение бактериальной колонизации раневой поверхности. В настоящее время в отечественном здравоохранении используется огромное количество средств, предназначенных для антисептики, при этом многие препараты морально устарели ввиду выработки микроорганизмами

механизмов резистентности, что не всегда обеспечивает эффективность биоцидов. Исследования последних лет показывают, что госпитальные штаммы микроорганизмов устойчивы к традиционным антисептикам (фурацилин, водный раствор хлоргексидина, раствор калия перманганата). Поэтому в вопросах, связанных с выбором эффективного препарата для лечения больных с термической травмой, необходима интеграция усилий микробиологов и хирургов. В связи с вышеизложенным исследование Еньчевой Ю.А., посвященное улучшению результатов хирургического лечения больных с глубокими ожогами III степени, является чрезвычайно важным как для хирургии, так и для клинической микробиологии.

2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. Материалы, представленные в данной диссертационной работе, свидетельствуют о значительном объеме выполненных исследований с использованием традиционных и высокотехнологичных хирургических приемов и методов микробиологического анализа, что позволило адекватно решить поставленные задачи. Первое научное положение, сформулированное в диссертации Ю.А. Еньчевой, связано с доказательством эффективности гидрохирургической обработки гранулирующих ожоговых ран в сочетании с одномоментной аутодермопластикой и применением в послеоперационном периоде «Пронтосана®» для лечения глубоких ожогов. Для обоснования данного положения были проанализированы результаты предложенного хирургического лечения и традиционного хирургического лечения ожогов III степени в двух репрезентативных группах больных ($n=68$ vs $n=71$), что позволило адекватно провести статистический анализ между этими группами. Эффективность хирургического лечения оценивалась на основании общепринятых клинических и микробиологических критериев. Для более детального сравнения пациенты каждой группы были разделены на 2 подгруппы, в зависимости от площади ожога, что позволило диссертанту не только сформулировать второе положение, но и предложить алгоритм комбинированного хирургического лечения ожогов III степени, разработанный с учетом площади ожога, срока с момента термической травмы, клинических критериев готовности грануляций и бактериальной обсемененности раны.

Третье защищаемое положение по целому ряду позиций совпадает с общемировыми и российскими наблюдениями, показывающими доминирование в ожоговой инфекции на протяжении длительного времени представителей *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, возрастающую роль полирезистентных *Acinetobacter baumannii*, замедленную элиминацию возбудителей из раны и развитие смешанной и суперинфекции. Тем не менее, изучение ведущих этиопатогенов проведено на хорошем методическом уровне с применением молекулярных методов исследования, что позволило не только изучить структуру возбудителей раневой ожоговой инфекции, проанализировать устойчивости к антимикробным препаратам, но и дать их генотипическую характеристику, показать эпидемиологическую значимость циркуляции данных возбудителей в отделении.

Особый интерес вызывает четвертое положение, связанное с оценкой влияния антисептиков, 0,05% раствора хлоргексидина биглюконата и «Пронтосана®» на сессильные формы бактерий *S. aureus* и *P. aeruginosa* в смешанном и моновидовых вариантах. Для оценки эффективности изучаемых биоцидов Ю.А. Еньчева применила два показателя – массивность биопленки, и что более значимо, число жизнеспособных клеток в составе биопленок после их экспозиции с антибактериальным средством. Следует отметить, что ранее для оценки действия антисептиков подход, связанный с моделированием ситуации смешанной инфекции, не применялся, и автору удалось получить интересные результаты. Так, хлоргексидин, практически не влияя на биомассу псевдомонадных биопленок, оказывал разрушающее воздействие на биопленки, сформированные в смешанной культуре с референтным штаммом *S. aureus*. Кроме того, показано, что оценка влияния биоцида на биопленки только по показателю массивности не всегда корректна. Для некоторых культур как в моновидовом, так и в смешанном варианте выявлено, что экспозиция с хлоргексидином приводила к увеличению показателя массивности биопленки, обусловленному лизисом поверхностных клеток, содержаемое которых (протеазы, лиазы, ДНК-азы) «разрыхляет» биопленку, способствуя проникновению красителя, обеспечивая ложное увеличение показателя биомассы биопленки при данном методе оценки.

Таким образом, достаточный объем исследованной выборки, информативность методических подходов, сопоставление результатов с данными научной литературы дают основания считать полученные результаты и выводы, сформулированные в диссертации, обоснованными.

3. Достоверность и новизна исследования и полученных результатов.

Достоверность полученных результатов подтверждается большим объемом проведенных исследований, учетом нескольких факторов, наличием необходимых контрольных вариантов и вариантов сравнения в каждом эксперименте. Основные феномены, обнаруженные и изученные в ходе экспериментального микробиологического исследования, были воспроизведены в опытах с разными клиническими и референтными штаммами *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Результаты исследований воспроизведены в достаточном количестве повторностей, обработаны статистически.

Оценивая научную новизну, необходимо отметить, что наиболее интересными представляются данные по изучению эффективности биоцидов в отношении полимикробных биопленок бактерий. Кроме того, использование современной микроскопической техники (атомно-силовой микроскопии и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии) позволило Ю.А. Еньчевой получить информацию о влиянии биоцидов на «зрелые» биопленки на уровне клетки, а именно, показать, что в биопленках обоих видов бактерий происходят фенотипические изменения клеток и структурные изменения клеточной поверхности, более выраженные при воздействии «Пронтосана[®]». Автором 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*. Таким образом, были получены достоверные бактериологические (*in vitro*) доказательства эффективности комбинированного биоцида на основе полигексанида в отношении моновидовых, и, что наиболее ценно, смешанных биопленок, которые дополнили клинические (*in vivo*) исследования.

4. Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций.

Диссертационная работа Ю.А. Еньчевой интересна не только научными

результатами, но и имеет большое научно-практическое значение. 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. Предложен метод обработки гранулирующих ран при обширных ожогах III степени (рационализаторское предложение и №2697 от 19.04.2016), сформулирован алгоритм лечения ожогов III степени (рационализаторское предложение №2709 от 29.10.2016). 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 имени Ф.Х. Граля».

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). Полагаю, что использование предложенного диссертантом подхода к оценке эффективности действия биоцидов в качестве скринингового способа перспективно. Информация о влиянии биоцидов на полимикробные биопленки может быть использована как основа для создания подходов к разработке методов борьбы с биопленками.

Подтверждением ценности научных работ соискателя является участие в профильных конференциях различного уровня с устными докладами. Информация, полученная в ходе исследования, включена в лекционный курс на кафедрах общей хирургии №1 и хирургии ФДПО ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ.

5. Содержание диссертации, ее завершенность, публикации автора в научной печати. Работа достаточна по объему (изложена на 135 страницах машинописного текста), построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 3-х глав результатов собственных исследований, заключения и выводов. Список цитируемой литературы включает 250 наименований работ, в том числе 128 отечественных и 122 зарубежных авторов. В обзоре литературы (22 стр.) представлено состояние научной проблемы, которой посвящена диссертация, а в конце данного раздела поставлены вопросы и определены приоритетные направления собственного исследования. Описанные во 2-ой главе объекты и методы исследования являются современными и адекватными поставленным задачам, характеризуют высокий уровень, трудоемкость и обширность проделанной работы. В главе 3 сначала представлены результаты хирургического лечения больных с ожогами III степени с помощью традиционного хирургического лечения и лечения с гидрохирургической обработкой гранулирующих ран и антисептика на основе полигексанида, а затем проведено сравнение эффективности различных методов оперативного лечения в зависимости от сроков оперативного лечения после травмы при глубоких ожогах в группах, различающихся по площади поражения. Многоплановый анализ позволил предложить алгоритм хирургического лечения ожогов III степени с учетом площади ожога, клинической готовности раны, ее бактериальной обсемененности и срока, прошедшего после травмы. В главе 4 представлен анализ официальных данных микробиологической лаборатории по частоте встречаемости и антибиотикоустойчивости возбудителей ожоговой инфекции за 2 года (ретроспективный анализ), а также результаты молекулярно-генетического исследования штаммов микроорганизмов, выделенных из раневой поверхности ожоговых больных (проспективное исследование). Эти данные позволили охарактеризовать особенности циркуляции ведущих этиопатогенов в ожоговом отделении и определить значимость эндогенного и экзогенного инфицирования пациентов. Глава 5 отражает результаты экспериментальных микробиологических исследований автора по изучению влияния биоцидов на моновидовые и смешанные биопленки, образованные *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Работа содержит большой фактический материал, который снабжен необходимыми иллюстрациями

(содержит 16 рисунков и 32 таблицы). Изложение материала построено логично, полученные данные подвергнуты необходимой статистической обработке, интерпретация результатов вполне корректна. В заключении сформулированы основные результаты работы. Выводы логически вытекают из сущности проведенных исследований, результаты которых достоверны и обсуждены на научных конференциях различного уровня. Материалы диссертации отражены в 16 печатных работах, в том числе 6 статей в журналах, относящихся к перечню рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК.

Диссертация обладает внутренним единством и представляет собой завершенное научное исследование. Автореферат адекватно отражает содержание диссертационной работы.

Принципиальных замечаний по существу работы и тексту диссертации нет, тем не менее возникли следующие вопросы:

1. При анализе частоты встречаемости возбудителей ожоговых ран в моно- или смешанной культуре, Вы подчеркиваете, что *A. baumannii* достоверно чаще высевали в составе ассоциаций, и более того, именно с последним выявлено большинство ассоциаций *P. aeruginosa*. Почему в экспериментальной части работы данная ассоциация не была исследована?

2. По мнению многих исследователей, увеличение количества микроорганизмов выше критического считается только показателем возможности инфицирования ожоговой раны, а состав культур может лишь указать на те организмы, которые имеются в ране. И только гистологическая экспертиза экземпляра биопсии является надежным средством дифференциации колонизации раны от инвазивной инфекции. Согласны ли Вы с этим мнением?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Еньчевой Ю.А. «Эффективность комбинированного хирургического лечения ожогов III степени» выполнена в соответствии с современными тенденциями развития хирургической и микробиологической науки, затрагивает вопросы оптимизации хирургического лечения ожоговых больных с учетом микробиологической оценки эффективности антисептических препаратов. Диссертация является самостоятельно выполненной

законченной научно-квалификационной работой, по своей актуальности, новизне, содержанию и практической значимости соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 с внесенными изменениями утвержденными постановлением Правительства от 21 апреля 2016 г. №335, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.17 – хирургия, 03.02.03 – микробиология.

доктор медицинских наук, начальник
отделения препаратов бактериотерапии
филиала ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ
«Пермское НПО «Биомед»

Несчисляев Валерий Александрович

«27» апреля 2017 года

Филиал ФГУП НПО Микроген в городе Пермь, Пермское НПО «Биомед». Адрес:
г. Пермь, ул. Братская, 177, телефон +7 342 262-82-85; email: neschislajew@gmail.com

Микроген подписал Алексей Александрович Засерин
Гривича, заверено, см. по персону
на Засерин

