

Анализ эффективности фаговой терапии у коморбидных пациентов с ранами и хирургической инфекцией различной этиологии по результатам сравнительного клинического исследования

© Ю.С. ПАСХАЛОВА^{1,2}, В.А. МИТИШ^{1,2}, Г.В. ХАМИДУЛИН², И.А. ЧЕКМАРЕВ^{1,2}, Р.П. ТЕРЕХОВА¹, В.С. ДЕМИДОВА¹, О.В. ПАКЛИНА^{1,3}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» Минобрнауки России, Москва, Россия;

³ГБУЗ «Московский Клинический Научно-практический Центр им. А.С. Логина» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Резюме

Обоснование. Сохраняющаяся актуальность проблемы лечения гнойных ран и хирургических инфекций различной этиологии и локализации на фоне возрастающей резистентности основных ее возбудителей диктует необходимость разработки альтернативных протоколов и поиска новых стратегий лечения, эффективность которых подтверждается данными эффективных методов диагностики.

Цель исследования. Анализ эффективности применения фаговой терапии по сравнению с традиционными методами местного медикаментозного и системного лечения у коморбидных пациентов с хирургической инфекцией различной этиологии и локализации посредством изучения микробиологического спектра, цитологии раневых отпечатков и морфологического, в том числе электронно-микроскопического исследования биоптатов тканей.

Материал и методы. Представлены результаты научно-исследовательской работы: постмаркетингового проспективного рандомизированного сравнительного клинического исследования с участием 70 взрослых пациентов с осложненными инфекциями кожи, мягких тканей и костей различной этиологии и локализации, проведенного в отделе ран и раневых инфекций ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России. В ходе исследования у всех пациентов анализировали клинические (отек, боль, характер раневого отделяемого, появление грануляционной ткани), лабораторные (наличие и регресс признаков системного ответа на наличие очага хирургической инфекции), микробиологические (качественные и количественные), цитологические и электронно-микроскопические показатели. Параметрические данные оценивали на основании средних и стандартного отклонения (SD) по 4 точкам исследования: точка 1 (2 ± 1 сут), точка 2 (4 ± 1 сут), точка 3 (6 ± 1 сут) и точка 4 (8 ± 1 сут). Ключевой конечной точкой являлся переход течения раневого процесса в фазу регенерации.

Результаты. Согласно протоколу исследования все включенные в анализ пациенты имели гнойно-некротические раны мягких тканей и костей разной этиологии и локализации, требовавшие хирургической обработки. Для рандомизации больных по группам при поступлении или интраоперационно брали материал для качественного и количественного микробиологического, цитологического, морфологического и электронно-микроскопического исследований. Рандомизация в группы применения бактериофагов была возможна при наличии чувствительности выделенных культур к препарату «Пиобактериофаг комплексный» жидкий (Пиофаг, АО «НПО Микроген», Россия). Больные 1-й группы ($n=20$) в послеоперационном периоде получали системную и местную фаговую терапию (по 20 мл 3 раза в сутки согласно инструкции к препарату), во 2-й группе ($n=20$) — системную и местную фаговую терапию в сочетании с локальным отрицательным давлением (-120 мм рт.ст., постоянный режим), доставка бактериофагов в очаг хирургической инфекции осуществлялась с помощью аппаратной инстиляции VitMobil (VitMedical, Россия), в 3-й группе ($n=30$) проводили системную и местную антибактериальную терапию (левофлоксацин 500 мг 2 раза в сутки, многокомпонентная мазь на полиэтиленгликолевой основе с фторхинолонами — Офломелид, Россия).

Анализ результатов лечения свидетельствует о высокой эффективности предлагаемого протокола во всех группах исследования. Во 2-й группе (локальное отрицательное давление с инстилляцией бактериофагов в сочетании с системной фаготерапией) отмечена наибольшая микробиологическая, цитологическая, гистологическая и клиническая эффективность, свидетельствующая о потенцировании обоих методов лечения гнойных ран различной этиологии и локализации (первые признаки купирования фазы воспаления отмечали уже к 4 ± 1 сут после операции). В целом во всех исследуемых группах удалось достичь ключевых конечных точек (переход течения раневого процесса в фазу регенерации) при хорошей переносимости терапии и высоком профиле безопасности. Ни в одной группе не потребовалось дополнительных хирургических вмешательств, летальные исходы не зарегистрированы. Нежелательные явления, требовавшие прекращения или смены варианта лечения, также не зарегистрированы.

Таким образом, на основании полученных результатов, использование «Пиобактериофаг комплексный» жидкий может быть рекомендовано в комплексном лечении гнойно-некротических ран различной этиологии и локализации при наличии множественной лекарственной устойчивости к антибактериальным препаратам основных групп, а также при наличии строгих противопоказаний к системной антибактериальной терапии. Наиболее эффективна комбинация общей и местной фаготерапии различными путями доставки (в частности, при помощи вакуумных-аппаратов с возможностью инстиляции).

Заключение. Принципы лечения тяжелой хирургической инфекции мягких тканей и костей у коморбидных пациентов в нашей стране по-прежнему строятся на методе активного хирургического лечения ран, разработанном в отделе ран и раневых инфекций Института хирургии им. А.В. Вишневского (ныне — ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России). Применительно к первой фазе течения раневого процесса результаты лечения во многом будут зависеть от радикальности и тщательности первичной хирургической обработки гнойного очага, общего и местного лечения в пери-

операционном периоде. Возрастающая проблема резистентности, формирование в хронических ранах биопленочных форм возбудителей, коморбидность, ограничивающая применение ряда антибиотиков резерва в виду их токсичности — определяют важность поиска альтернативных протоколов лечения в таких сложных клинических ситуациях. Полученные в работе обнадеживающие результаты свидетельствуют о необходимости для практического здравоохранения продолжать исследовать и внедрять в комплексное лечение хирургической инфекции препараты бактериофагов, разрабатывать новые пути их доставки в очаг для поддержания необходимой концентрации и активности.

Ключевые слова: осложненные инфекции кожи, мягких тканей и костей, гнойная рана, гнойно-некротический очаг, хирургическая инфекция, хирургическое лечение, местное лечение, бактериофаги, Пиофаг, локальное отрицательное давление, мази на полиэтиленгликолевой основе, фторхинолоны.

Информация об авторах:

Пасхалова Ю.С. — <https://orcid.org/0000-0003-1215-8035>

Митиш В.А. — <https://orcid.org/0000-0001-6411-0709>

Хамидулин Г.В. — <https://orcid.org/0000-0001-6583-1890>

Чекмарева И.А. — <https://orcid.org/0000-0003-0126-4473>

Терехова Р.П. — <https://orcid.org/0000-0002-4622-1429>

Демидова В.С. — <https://orcid.org/0000-0003-3187-4408>

Паклина О.В. — <https://orcid.org/0000-0001-6373-1888>

Автор, ответственный за переписку: Пасхалова Ю.С. — e-mail: 9057176757@mail.ru

Как цитировать:

Пасхалова Ю.С., Митиш В.А., Хамидулин Г.В., Чекмарева И.А., Терехова Р.П., Демидова В.С., Паклина О.В. Анализ эффективности фаговой терапии у коморбидных пациентов с ранами и хирургической инфекцией различной этиологии по результатам сравнительного клинического исследования. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2025;3:121–135. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2025031121>

Phage therapy analysis of effectiveness in comorbid patients with wounds and surgical infections of various etiology based on the results of a comparative clinical study

© YU.S. PASKHALOVA^{1, 2}, V.A. MITISH^{1, 2}, G.V. KHAMIDULIN², I.A. CHEKMAREVA^{1, 2}, R.P. TEREKHOVA¹, V.S. DEMIDOVA¹, O.V. PAKLINA^{1, 3}

¹A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia;

³A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific and Practical Center Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia

Abstract

Background. The continued importance of addressing the issue of treating purulent wounds and surgical infections of different origins and localization against the background of increased resistance of their main pathogens dictates the need to develop alternative protocols and search for new treatment strategies, the effectiveness of which is confirmed by objective diagnostic methods.

Objective. The aim of the study was to analyze the effectiveness of phage therapy in comparison with traditional methods of local drug and systemic treatment in comorbid patients with surgical infection of various etiologies and localization by studying the microbiological spectrum, cytology of wound impressions and morphological, including electron microscopic examination of tissue biopsies.

Material and methods. The results of the research are presented: a post-marketing, prospective, randomized, comparative clinical trial enrolling 70 adult patients with complicated skin, soft tissue, and bone infections of various etiologies and localizations, conducted at the Department of Wounds and Wound Infections, National Medical Research Center for Surgery named after A. Vishnevsky, Ministry of Health of the Russian Federation. During the study, clinical (edema, pain, the nature of wound discharge, the appearance of granulation tissue), laboratory (the presence and regression of signs of a systemic response to the presence of a surgical infection), microbiological (qualitative and quantitative), cytological and electron microscopic parameters were analyzed in all patients. Parametric data were evaluated based on the mean and standard deviation (SD) at 4 study points: point 1 (2±1 days), point 2 (4±1 days), point 3 (6±1 days) and point 4 (8±1 days). The key endpoint was the transition of the wound process into the regeneration phase.

Results. According to the study protocol, all the patients included in the analysis had purulent-necrotic wounds of soft tissues and bones different etiology and localization, requiring surgical debridement. To randomize patients into groups, upon admission or intraoperatively, material was collected for qualitative and quantitative microbiological, cytological, morphological and electron microscopic studies. Randomization into groups of bacteriophages was possible in the presence of sensitivity of isolated cultures to the "Piobacteriophage complex" liquid (Piofag, JSC NPO Microgen, Russia). In the postoperative period, patients of group 1 (n=20) received systemic and local phage therapy (20 ml 3 times a day, according to the instructions), in group 2 (n=20) — systemic and local phage therapy, combined with local negative pressure (-120 mmHg, constant mode), delivery of bacteriophages to the surgical infection site was carried out using VitMobil instillation (VitMedical, Russia), systemic (levofloxacin 500 mg twice a day) and local (multicomponent polyethylene glycol-based ointment with fluoroquinolones — Ofloamelid, Russia) antibacterial therapy was performed in group 3 (n=30). An analysis of the treatment results indicates the high effectiveness of the proposed protocol in all study groups. In group 2 (local negative pressure with bacteriophage instillation in combination with systemic phage therapy) the best microbiological, cytological, histological and clinical efficacy was noted, indicating the potentiation of both methods of treating purulent wounds of various etiology and localization (the first signs of relief of the inflammatory phase were

noted by 4 ± 1 days after surgery). In general, key endpoints (the transition of the wound process to the regeneration phase) were achieved in all the studied groups with good tolerability of therapy and a high safety profile. No additional surgical interventions were required in any group, and no deaths were reported. No adverse events requiring discontinuation or change of treatment option have been reported. Based on the results obtained, the use of Pyobacteriophage complex liquid can be recommended for the complex treatment of purulent-necrotic wounds of various etiologies and localization in the presence of multiple antibiotic resistance, as well as in cases where systemic antibacterial therapy is contraindicated. The most effective is a combination of general and local phage therapy by various delivery routes (in particular, using vacuum devices with the possibility of instillation).

Conclusion. The principles of treatment of soft tissues and bones severe surgical infection in comorbid patients in our country are still based on the method of active surgical treatment of wounds developed in the Department of Wounds and Wound Infections of the Vishnevsky Institute of Surgery (now, the Vishnevsky National Research Medical Center of Surgery of the Ministry of Health of the Russian Federation). In relation to the first phase of wound healing, the results of treatment will largely depend on the radicality and thoroughness of the primary surgical debridement of the purulent focus, general and local treatment in the perioperative period. The increasing problem of resistance, the formation of biofilm forms of pathogens in chronic wounds, and comorbidity, which limits us to using a number of reserve antibiotics due to their toxicity, determine the importance of finding alternative treatment protocols for such complex clinical situations. The results of the study are encouraging and demonstrate that practical healthcare should continue to pay attention to the study and use of bacteriophage drugs in the complex treatment of surgical infection. It is necessary to look for new ways to deliver these drugs directly to the infection site in order to maintain their optimal concentration and activity.

Key words: complicated infections of the skin, soft tissues and bones, purulent wound, purulent-necrotic focus, surgical infection, surgical treatment, local treatment, bacteriophages, Pyophage, local negative pressure, ointments based on polyethylene glycol, fluoroquinolones.

Information about the authors:

Paskhalova Yu.S. — <https://orcid.org/0000-0003-1215-8035>

Mitish V.A. — <https://orcid.org/0000-0001-6411-0709>

Khamidulin G.V. — <https://orcid.org/0000-0001-6583-1890>

Chekmareva I.A. — <https://orcid.org/0000-0003-0126-4473>

Terekhova R.P. — <https://orcid.org/0000-0002-4622-1429>

Demidova V.S. — <https://orcid.org/0000-0003-3187-4408>

Paklina O.V. — <https://orcid.org/0000-0001-6373-1888>

Corresponding author: Paskhalova Y.S. — e-mail: 9057176757@mail.ru

To cite this article:

Paskhalova YuS, Mitish VA, Khamidulin GV, Chekmareva IA, Terekhova RP, Demidova VS, Paklina OV. Phage therapy analysis of effectiveness in comorbid patients with wounds and surgical infections of various etiology based on the results of a comparative clinical study. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2025;3:121–135. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/hirurgia202503121>

Введение

Терапия иммунобиологическими средствами, такими как бактериофаги, становится многообещающей стратегией, на которую врачи возлагают большие надежды при лечении больных с гнойными ранами и бактериальной хирургической инфекцией кожи и мягких тканей различной этиологии и локализации, особенно при наличии в очаге микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью.

Бактериальные инфекции кожи и мягких тканей сохраняют лидирующие позиции в структуре обращаемости за хирургической помощью во всем мире, достигая 30–40%, и могут всерьез влиять на прогноз заживления ран [1]. Инфицироваться могут любые раны, что обусловлено рядом факторов, включая воздействие окружающей среды, состояние кожи и наличие внутренних источников инфекции в организме пациента.

За последние несколько лет выявлено несколько профилей устойчивости к антибактериальным препаратам, включая фенотипы с множественной лекарственной устойчивостью, широкой лекарственной устойчивостью и панлекарственной

устойчивостью [2]. Наиболее распространенными микроорганизмами, которые способны вызывать раневую инфекцию и часто обладают резистентностью к традиционным антибактериальным препаратам, являются *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii* [2, 3].

Бактериофаги — вирусы, поражающие бактериальные клетки, были открыты более века назад французским ученым д'Эреллем [4]. Они имеют узкий спектр активности, что позволяет избежать такой проблемы, как влияние на всю микробиоту с элиминацией потенциально полезных бактерий, чрезмерным ростом вторичных патогенов и появлением резистентных форм микроорганизмов [5, 6].

В работе А. Pinto и соавт. (2020) [7] показано, что фаговая терапия может с успехом использоваться при лечении хронических ран различной этиологии и локализации, имеет широкий спектр эффективности в отношении метициллинрезистентного золотистого стафилококка (MRSA) и высокий профиль безопасности для пациентов. Фаговая терапия нашла свое применение в различных областях хирургии. Так, в клиническом наблюдении описанном J. Mulzer и соавт.

(2020) [8] сообщается об использовании бактериофагов у пациента с ишемической кардиомиопатией после установки искусственного левого желудочка (LVAD), осложнившейся инфицированием послеоперационной раны *S. aureus*. В.А. Митиш и соавт. (2023) продемонстрировали успешное общее и местное применение бактериофагов в комбинации с терапией отрицательным давлением (ЛОД) в составе комплексного хирургического лечения гнойного процесса в мягких тканях на фоне системного аутоиммунного заболевания [9]. Ряд работ показывает высокую эффективность применения бактериофагов для профилактики инфекций после свободной кожной пластики [10].

Терапия фагами находит свое место и в лечении пациентов с травмами спинного мозга, у которых зачастую имеется инфекция мочевыводящих путей, спровоцированная *E. coli* [11]. Способность фагов разрушать биопленки и уничтожать бактерии, заключенные в них, открывает новые горизонты в лечении инфекций мягких тканей и костей у больных, перенесших спинномозговую травму [12].

Изучение влияния бактериофагов на микробиоту, а также на процессы очищения и заживления ран и их продолжительность, представляет собой перспективное направление. Особенно актуальным оно становится для коморбидных пациентов с гнойными ранами различной этиологии и локализации или при наличии трудностей с подбором рациональной системной антибактериальной терапии (например, при выраженной хронической почечной недостаточности или после трансплантации почки, аутоиммунных заболеваниях, серьезных проблемах с обменом веществ и метаболизмом), что и легло в основу настоящей работы.

Цель исследования: анализ эффективности применения фаговой терапии в сравнении с традиционными методами местного медикаментозного и системного лечения у коморбидных пациентов с хирургической инфекцией различной этиологии и локализации посредством изучения микробиологического спектра, цитологии раневых отпечатков, морфологического и электронно-микроскопического исследования биоптатов тканей.

Материал и методы

В проспективное рандомизированное сравнительное клиническое исследование последовательно включены 70 больных, лечившихся в отделе ран и раневых инфекций ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России в 2022—2024 гг. в рамках протокола постмаркетинговой НИР «Исследование эффективности и безопасности препарата «Пиобактериофаг комплексный» жидкий в лечении гнойных ран различной этиологии и локализации у взрослых с 18 до 60 лет» (одобрение

ЛЭК №7/2НИР-22 от 31.05.2022). При поступлении в стационар у всех больных диагностировано наличие гнойно-некротического очага или раны различной этиологии и локализации. В день госпитализации у всех больных брали образцы раневого отделяемого для микробиологических исследований, раневых отпечатков для цитологических исследований и биоптатов ран для электронно-микроскопического анализа, что служило отправной точкой для проведения дальнейшей работы. На каждом этапе лечения проводили фотодокументирование раны с последующей планиметрией («АналиРан», Россия). Всем пациентам выполнили хирургическую обработку гнойно-некротического очага или раны. После оперативного вмешательства, получения результатов лабораторных исследований и определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам и бактериофагам пациентов рандомизировали в одну из 3 групп (рандомизация пациента в группу с применением фаговой терапии была возможна при получении положительного ответа о чувствительности выделенных микроорганизмов к «Пиобактериофаг комплексный» жидкий, далее, Пиофаг (АО «НПО Микроген», Россия). В последующем каждые 2 ± 1 сут в течение 8 ± 1 сут брали биоптаты тканей и раневые отпечатки для качественного и количественного микробиологического исследования, цитологического и гистологического анализа с целью контроля за динамикой раневого процесса и эффективностью лечения.

В ходе исследования у всех пациентов анализировали клинические (отек, боль, характер раневого отделяемого, появление грануляционной ткани), лабораторные (наличие и регресс признаков системного ответа на наличие очага хирургической инфекции), микробиологические (качественные и количественные), цитологические и электронно-микроскопические показатели. Параметрические данные оценивали на основании средних (M) и стандартного отклонения (SD) по 4 точкам исследования: точка 1 (2 ± 1 сут), точка 2 (4 ± 1 сут), точка 3 (6 ± 1 сут) и точка 4 (8 ± 1 сут). Для определения статистической значимости результатов при межгрупповом сравнении (p) использовали критерий для несвязанных выборок Манна—Уитни (U -критерий). Конечной точкой исследования являлся переход течения раневого процесса в фазу регенерации, характеризующийся низким уровнем микробной обсемененности, регенераторным или регенераторно-воспалительным типом цитограмм, наличием грануляционной ткани (степень ее зрелости могла быть различной).

Результаты

Первая группа ($n=20$) — после хирургической обработки гнойного очага назначали Пиофаг как местно в рану, так и внутрь (per os) по 20 мл 3 раза в сут-

ки согласно инструкции к применению (системная и местная антибактериальная терапия не проводилась, антисептики не использовали). В группу вошли 11 (55,0%) мужчин и 9 (45,0%) женщин. Средний возраст пациентов составил $47,2 \pm 18,6$ года у мужчин и $59,0 \pm 11,5$ года — у женщин. С гнойно-некротическими ранами (синдром диабетической стопы) при сахарном диабете 2-го типа было 10 (50,0%) пациентов, с ранами передней стенки грудной клетки вследствие хронического послеоперационного остеомиелита грудины и ребер при сахарном диабете 2-го типа — 2 (10,0%), с инфицированными свищевыми ходами после имплантации левожелудочковой системы вспомогательного кровообращения HeartMate 3 («Abbott», США) — 2 (10,0%), с гнойно-некротическими ранами (синдром диабетической стопы) при сахарном диабете 1-го типа после аллотрансплантации почки — 2 (10,0%), с атипичными инфицированными ранами мягких тканей на фоне аутоиммунных (ревматоидный артрит, васкулиты), онкологических (лейкозы) заболеваний — 2 (10,0%), с глубоким пролежнем левой седалищной области у пациента с врожденной спинномозговой грыжей, дилатационной кардиомиопатией, нижней параплегией, с нарушением функции тазовых органов и выраженным сколиозом — 1 (5,0%), с нагноившейся кистой эпителиального копчикового хода при синдроме множественной фолликулярной окклюзии — 1 (5,0%).

Вторая группа ($n=20$) — после хирургической обработки гнойного очага, при достижении стабильного гемостаза (1—3 сут послеоперационного периода) начинали терапию ЛОД VitMobil («VitMedical», Россия) с инстилляцией Пиофага по 20 мл 3 раза в сутки согласно инструкции к препарату (системная и местная антибактериальная терапия не проводилась, антисептики не использовали). Режим инстилляции Пиофага продолжительностью 90 мин 3 раза в сутки сменялся режимом постоянного ЛОД на уровне -120 мм рт.ст.; замену флакона с бактериофагом осуществляли ежедневно, а смену вакуумной повязки — 1 раз в 3—5 сут в зависимости от степени экссудации и переносимости терапии, всего требовалось 2—3 смены повязок. В группу вошли 15 (75,0%) мужчин и 5 (25,0%) женщин. Средний возраст пациентов составил $56,4 \pm 8,3$ года у мужчин и $51,8 \pm 12,3$ года — у женщин. С гнойно-некротическими ранами (синдром диабетической стопы) при сахарном диабете 2-го типа было 6 (30,0%) пациентов, с атипичными инфицированными ранами мягких тканей на фоне системных, аутоиммунных, онкологических заболеваний — 6 (30,0%), с инфицированными свищевыми ходами в пределах мягких тканей и костей (седалищная, большеберцовая кость) — 3 (15,0%), с гнойно-некротическими ранами крестцово-копчиковой области (глубокий пролежень) — 3 (15,0%), с ранами передней стенки грудной клетки вследствие хронического

послеоперационного остеомиелита грудины и ребер при сахарном диабете 2-го типа — 2 (10,0%).

Третья группа ($n=30$) — группа сравнения, в которой после хирургической обработки гнойного очага назначали системную антибактериальную терапию препаратом широкого спектра действия из группы фторхинолонов (левофлоксацин по 500 мг 2 раза в сутки внутрь или внутривенно капельно) и местное медикаментозное лечение ран (водные растворы антисептиков, многокомпонентные мази на полиэтиленгликолевой основе с фторхинолонами — мазь Офломелид). В группу вошли 22 (73,3%) мужчин и 8 (26,7%) женщин. Средний возраст больных составил $60,8 \pm 12,8$ года у женщин и $53,3 \pm 13,0$ года у мужчин. С гнойно-некротическими ранами (синдром диабетической стопы) при сахарном диабете 2-го типа было 14 (46,7%) пациентов, с инфицированными ранами мягких тканей на фоне аутоиммунных (ревматоидный артрит, васкулиты), онкологических (лейкозы), сосудистых (хроническая венозная, артериальная недостаточность) заболеваний — 7 (23,3%), с гнойно-некротическими ранами (синдром диабетической стопы) при сахарном диабете 1-го типа — 4 (13,3%), с инфицированными ранами или свищевыми ходами и вовлечением костей (глубокие пролежни) — 3 (10,0%), с ранами передней стенки грудной клетки вследствие хронического послеоперационного остеомиелита грудины и ребер при сахарном диабете 2-го типа — 2 (6,7%).

Наилучшие клинические результаты получены во 2-й группе исследования (использование инстилляционной фаговой терапии с ЛОД), в которой уже к 4-м суткам после хирургической обработки раны или гнойно-некротического очага наблюдали купирование отека, гиперемии, отсутствие гнойного отделяемого, начальные признаки появления грануляционной ткани даже несмотря на наличие сахарного диабета, аутоиммунных или онкологических заболеваний (табл. 1; рис. 1, 2). В целом во всех группах удалось достичь ключевой конечной точки при хорошем профиле переносимости и безопасности терапии, летальных исходов не было. Статистически значимых различий в сроках перехода течения раневого процесса при лечении пациентов монофаговой терапией (местно и внутрь) или системной и местной антибактериальной терапией не получено ($p>0,5$), однако при монотерапии раствором Пиофага мы заметили более низкую приверженность лечению как у пациентов, так и медицинского персонала, связанную с большей кратностью процедур (3 перевязки в сутки, влажная прохладная повязка, 3 приема раствора Пиофага внутрь, который должен храниться в холодильнике и транспортироваться с соблюдением холодового режима). На этом фоне 1 перевязка в сутки с мазью на полиэтиленгликолевой основе и двукратное введение антибактериальных препаратов выглядят комфортнее и экономичнее, но помня о высоком

Таблица 1. Характеристика результатов лечения
Table 1. Characteristics of treatment results

Параметр	1-я группа (n=20) Пиофаг местно+внутри	2-я группа (n=20) Пиофаг инстилляцией+локальное отрицательное давление	3-я группа (n=30) левофлоксацин внутри, внутривенно+мазь с офлоксацином на основе ПЭГ
Клиническая эффективность, сут	14±2	4±1	12±2
Микробиологическая эффективность, сут	8±1	4±2	8±2
Переносимость терапии, баллы*	3	3	3
Безопасность, баллы*	2		2

Примечание. * 1 балл — плохое купирование болевого синдрома, низкая приверженность; наличие слабо выраженных нежелательных явлений и побочных реакций (головная боль, головокружение, тошнота), не ограничивающих повседневную активность; 2 балла — средняя скорость купирования болевого синдрома, умеренная приверженность терапии, наличие нескольких слабо или умеренно выраженных нежелательных явлений и побочных реакция, не ограничивающих повседневную активность; 3 балла — быстрое купирование интенсивности боли и высокая приверженность терапии, наличие выраженных нежелательных явлений и побочных реакций.



Рис. 1. Обширная гнойно-некротическая рана левых стопы и голени после хирургического лечения флегмоны (*St. aureus* 10⁷ КОЕ/г, *Ps. aeruginosa* 10⁵ КОЕ/г, воспалительный тип цитогрaмм).

Fig. 1. Extensive purulent-necrotic wound of the left foot and lower leg after surgical treatment of cellulitis (*S. aureus* 10⁷ CFU/g, *P. aeruginosa* 10⁵ CFU/g, inflammatory type of cytograms).



Рис. 2. Обширная гранулирующая рана левых стопы и голени на 7-е сутки после повторной хирургической обработки, 2 сеансов локального отрицательного давления с инстилляцией раствора Пиофага (*St. epidermidis* 10¹ КОЕ/г, регенераторный тип цитогрaмм).

Fig. 2. Extensive granulating wound of the left foot and lower leg on the day 7 after repeated surgical treatment, 2 treatments of local negative pressure with instillation of Pyofag solution (*S. epidermidis* 10¹ CFU/g, regenerative type of cytograms).

профиле безопасности фаговой терапии и возрастающей проблеме полирезистентности, важно предусмотреть способы доставки бактериофагов в рану (очаг хирургической инфекции) с целью снижения процента выявления указанных выше особенностей. В частности, инстилляционная терапия растворами

бактериофагов в отсутствие противопоказаний к применению ЛОД выглядит наиболее перспективной для местной доставки, а производство и регистрация готовых растворов бактериофагов для внутривенного введения должно стать важной вехой в системной терапии тяжелой хирургической инфекции.

Микробиологическое исследование

Из тканевых биоптатов и раневого отделяемого 70 включенных в исследование больных выделено 772 штамма, их структура отражена в диаграмме (рис. 3). Наиболее часто в очагах хирургической инфекции наблюдали смешанную аэробную (60,9%) и смешанную аэробно-анаэробную флору (21,7%) наблюдений, монокультуру выделили в 17,4% случаев.

Выделенные штаммы обладали хорошей чувствительностью к раствору Пиофага, особенно к наиболее частым возбудителям раневой хирургической инфекции *St. aureus* и *St. epidermidis* (табл. 2). В группе MRSA штаммов не обнаружено ни одного резистентного к Пиофагу, в то время как среди штаммов MRSE встречались резистентные и слабочувствительные к бактериофагам клетки бактерий, но в целом Пиофаг продемонстрировал высокую литическую активность против MRSE. Все выделенные гипермукоидные вирулентные штаммы *K. pneumonia*, обладающие множественной резистентностью к антибиотикам (MBL штаммы), характеризовались 100,0 перекрестной чувствительностью к Пиофагу.

Для сравнительного анализа микробиологической эффективности выбраны микроорганизмы, которые наиболее часто высевались во всех исследуемых группах — *S. aureus* и *S. epidermidis*.

При сравнении 1-й группы (Пиофаг местно и внутрь) с 3-й группой (системная и местная антибактериальная терапия) отмечали общую тенденцию к снижению количества микроорганизмов в 1 г тканевых биоптатов на всех точках исследования в обеих группах (табл. 3). Если при сравнении скорости снижения обсемененности ран *S. aureus* в точке 1 не выявили статистически значимого различия

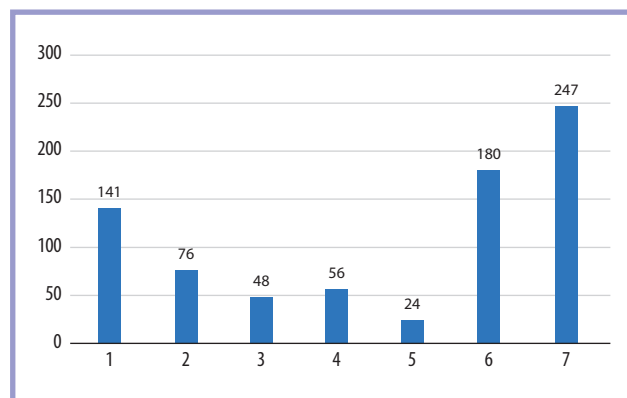


Рис. 3. Структура и абсолютные значения выделенных из ран и очагов хирургической инфекции штаммов микроорганизмов.

1 — *P. aeruginosa*; 2 — *K. pneumonia*; 3 — *E. coli*; 4 — *E. faecalis*; 5 — *E. faecum*; 6 — *S. epidermidis*; 7 — *S. aureus*.

Fig. 3. Structure and absolute count of microorganism strains isolated from wounds and of surgical infection foci.

1 — *P. aeruginosa*; 2 — *K. pneumonia*; 3 — *E. coli*; 4 — *E. faecalis*; 5 — *E. faecum*; 6 — *S. epidermidis*; 7 — *S. aureus*.

Таблица 2. Чувствительность выделенных штаммов к Пиофагу

Table 2. Susceptibility of isolated strains to Pyofag

Микроорганизм (n=772)	Чувствительность к Пиофагу, %	
	S	R
<i>K. pneumoniae</i> (n=76)	44,0	
<i>P. aeruginosa</i> (n=141)	36,0	
<i>E. coli</i> (n=48)	56,0	44,0
<i>S. aureus</i> (n=247)	72,0	
<i>S. epidermidis</i> (n=180)	71,0	
<i>E. faecalis</i> (n=80)	63,0	

Таблица 3. Анализ количественной микробной обсемененности ран в группе применения Пиофага внутрь и местно с группой сравнения

Table 3. Analysis of quantitative microbial contamination of wounds in the oral and topical Pyofag group versus the comparison group

Точка исследования	1-я группа (n=20) Основная: Пиофаг местно+внутри	3-я группа (n=30) Сравнения: левифлоксацин внутрь, внутривенно+мазь с офлоксацином на основе ПЭГ	U-критерий Манна—Уитни	p
<i>S. aureus</i>				
1 (2±1) сут	2,55	1,23	408,00	0,01
2 (4±1) сут	2,50	0,76	455,00	0,06·10 ⁻²
3 (6±1) сут	2,30	0,43	483,50	0,03·10 ⁻³
4 (8±1) сут	1,65	0,13	480,00	0,01·10 ⁻³
<i>S. epidermidis</i>				
1 (2±1) сут	0,30	0,56	298,00	0,95
2 (4±1) сут	0,30	0,15	320,00	0,34
3 (6±1) сут	0,30	0,06	321,00	0,32
4 (8±1) сут	0,20	0,00	330,00	0,08

Таблица 4. Сравнительный анализ количественной микробной обсемененности ран во 2-й группе — применения Пиофага (инстиляция) и локального отрицательного давления и в 3-й группе
Table 4. Comparative analysis of quantitative microbial contamination of wounds in group 2 (Pyofag instillation and local negative pressure) and group 3

Точка исследования	2-я группа (n=20) Основная: Пиофаг местно+внутри	3-я группа (n=30) Сравнения: левофлоксацин внутрь, внутривенно+мазь с офлоксацином на основе ПЭГ	U-критерий Манна—Уитни	p
<i>S. aureus</i>				
1 (2±1) сут	2,95	1,23	460,50	0,06·10 ⁻²
2 (4±1) сут	1,95	0,76	413,50	0,09·10 ⁻¹
3 (6±1) сут	1,80	0,43	440,00	0,08·10 ⁻²
4 (8±1) сут	0,85	0,13	373,00	0,02
<i>S. epidermidis</i>				
1 (2±1) сут	0,30	0,56	285,00	0,54
2 (4±1) сут	0,15	0,15	305,00	0,79
3 (6±1) сут	0,00	0,06	290,00	0,43
4 (8±1) сут	0,00	0,00	300,00	1,00

между двумя группами, то в точках 2—4 наблюдалась отчетливая статистически значимая ($p<0,05$) тенденция к снижению количественной микробной обсемененности, более выраженная для группы сравнения (3-я группа). Для *S. epidermidis* на всех точках исследования статистических различий между двумя группами обнаружено не было, однако средние количественные показатели прогрессивно снижались и свидетельствовали о переходе течения раневого процесса в фазу регенерации (менее 10^3 КОЕ/г) к 8-м суткам наблюдения (4-я точка).

При сравнении результатов, полученных во 2-й группе (Пиофаг инстиляция+ЛОД) и 3-й группе мы видим общую тенденцию к снижению количества микроорганизмов в ране на всех точках исследования в обеих группах (табл. 4). Обсемененность *S. aureus* статистически значимо быстрее снижалась во 2-й группе на всех точках исследования ($p<0,05$). Для *S. epidermidis* межгрупповые различия были статистически незначимы, но количественные показатели прогрессивно снижались в обеих группах и свидетельствовали о переходе течения раневого процесса в фазу регенерации к концу наблюдения.

Межгрупповой анализ количественных показателей микробной обсемененности ран и гнойно-некротических очагов больных всех групп показал, что локальное и системное использование Пиофага любыми путями доставки сопоставимо (нет статистически значимых различий) с применением системной и местной антибактериальной терапии в отношении основных возбудителей хирургических инфекций кожи и мягких тканей. Сочетанное использование местной фаготерапии (инстилляционная доставка в очаг) и ЛОД достоверно быстрее снижает микробную обсемененность до критического уровня 10^5 КОЕ/г и менее, что свидетельствует о потенцирующем действии обоих методов лечения.

Цитологическое исследование

В настоящей работе нас интересовала не столько динамика изменения цитологии раневых отпечатков, сколько количественные изменения и типы клеток, присутствующие в ранах больных 3 групп в разные временные интервалы после хирургической обработки гнойного очага. Проанализированы количественные изменения содержания нейтрофилов, макрофагов, и лимфоцитов.

Нейтрофилы

Нейтрофилы играют важную роль в течении раневого процесса. Они участвуют в борьбе с инфекционными агентами и способствуют регенерации тканей [13—15].

Сравнительный анализ среднего содержания нейтрофилов в раневых отпечатках больных 1-й и 3-й групп показал, что хирургическая обработка раны приводит к снижению нейтрофилеза (точка 1) в обеих группах, с постепенным возрастанием их количества (точка 2). Далее до точки 3 исследования (6 ± 1 сут) процент нейтрофилов в поле зрения оставался высоким, независимо от того проводили ли местное и системное лечение фагами или антибактериальными средствами (табл. 5). Выраженное снижение количества нейтрофилов в 1-й и 3-й группах происходило к точке 4 исследования (8 ± 1 сут) и свидетельствовало о начале перехода течения раневого процесса в фазу регенерации. Межгрупповые различия были статистически незначимы ($p>0,05$), что демонстрирует сопоставимую эффективность монофаговой и антибактериальной терапии для данных больных.

При сравнении цитологических данных больных 2-й и 3-й групп также отмечали снижение количества нейтрофилов сразу после хирургической обработки и нарастание в послеоперационном периоде,

Таблица 5. Сравнительный анализ среднего содержания нейтрофилов в раневых отпечатках, полученных из ран и гнойно-некротических очагов на фоне терапии бактериофагами и при антибактериальной терапии

Table 5. Comparative analysis of the mean neutrophil count in wound touch smears obtained from wounds and purulent-necrotic lesions during bacteriophage therapy and antibacterial therapy

Точка исследования	1-я группа (n=20)	3-я группа (n=30)	U-критерий Манна—Уитни	p
	Основная: Пиофаг местно+внутри	Сравнения: левофлоксацин внутрь, внутривенно+мазь с офлоксацином на основе ПЭГ		
	Нейтрофилы, %			
1 (2±1) сут	44,07	40,58	310	0,84
2 (4±1) сут	52,29	46,15	340	0,43
3 (6±1) сут	54,50	45,88	323	0,65
4 (8±1) сут	34,70	21,46	375	0,12

Таблица 6. Сравнительный анализ среднего содержания нейтрофилов в раневых отпечатках, полученных из ран и гнойно-некротических очагов на фоне инстилляций бактериофагов с локальным отрицательным давлением и при антибактериальной терапии

Table 6. Comparative analysis of the mean neutrophil count in wound touch smears obtained from wounds and purulent-necrotic lesions during instillation of bacteriophages with local negative pressure and antibacterial therapy

Точка исследования	2-я группа (n=20) Основная: Пиофаг инстиляция+локальное отрицательное давление	3-я группа (n=30) Сравнения: левофлоксацин внутрь, внутривенно+мазь с офлоксацином на основе ПЭГ	U-критерий Манна—Уитни	p
	Нейтрофилы, %			
1 (2±1) сут	15,92	40,58	197	0,04
2 (4±1) сут	57,10	46,15	348	0,34
3 (6±1) сут	36,55	45,88	242	0,24
4 (8±1) сут	32,80	21,46	371	0,13

более выраженное во 2-й группе (табл. 6). Кроме того, во 2-й группе наблюдали максимальную реакцию нейтрофилов к точке 2 исследования (4±1 сут), после чего происходило уменьшение их количества, свидетельствующее о стихании воспалительного процесса. Общая тенденция уменьшения количества нейтрофилов к точке 4 исследования отмечена во всех 3 группах больных. Пиковые значения средних уровней нейтрофилов на 4—6-е сутки исследования у больных 2-й группы связываем с действием ЛОД, усиливающим микроциркуляцию в ране и околораневой зоне, создающим рабочую гиперемии и привлечение и активацию клеток воспалительного ряда. Это на фоне снижения микробной обсемененности (бактерицидное действие фагов и эвакуация раневого отделяемого в контейнер вакуумной системы) способствует переходу течения раневого процесса в фазу регенерации в максимально физиологические сроки.

Макрофаги

Макрофаги играют ключевую роль в процессе заживления ран, регулируя все его фазы: воспаление, регенерацию и эпителизацию. Они имеют два фенотипа — провоспалительный (M1) и противовоспалительный (M2), могут переходить из одного в дру-

гой и при активации продуцировать интерлейкины различных типов (инициирующих воспалительный ответ или наоборот, способствующих заживлению ран) [16, 17]. В хронических ранах этот процесс замедлен, в связи с дисфункцией макрофагов в них наблюдается персистирующая воспалительная реакция, что задерживает рану в первой или переходной фазе течения раневого процесса и останавливает заживление [18].

Макрофагальная реакция в 1-й и 2-й группах (с применением бактериофагов) была достоверно значительно более выраженной, чем в группе сравнения, и сохранялась такой до точки 4 исследования (табл. 7, 8).

В силу того что клинически и микробиологически мы наблюдали постепенный переход от первой фазы течения раневого процесса ко второй во всех 3 группах больных, сохраняющаяся макрофагальная реакция косвенно может свидетельствовать о персистировании в раневых отпечатках макрофагов с противовоспалительным фенотипом.

Лимфоциты

Лимфоциты принимают непосредственное участие в процессе заживления ран, выполняя как ре-

Таблица 7. Сравнительный анализ среднего содержания макрофагов в раневых отпечатках, полученных из ран и гнойно-некротических очагов на фоне терапии бактериофагами и при антибактериальной терапии
Table 7. Comparative analysis of the mean macrophage count in wound touch smears obtained from wounds and purulent-necrotic lesions during bacteriophage therapy and antibacterial therapy

Точка исследования	1-я группа (n=20)	3-я группа (n=30)	U-критерий Манна—Уитни	p
	Основная: Пиофаг местно+внутри	Сравнения: левофлоксацин внутрь, внутривенно+мазь с офлоксацином на основе ПЭГ		
Макрофаги				
1 (2±1) сут	5,00	5,83	365,00	0,19
2 (4±1) сут	5,07	5,18	323,00	0,65
3 (6±1) сут	10,95	4,48	450,00	0,02·10 ⁻¹
4 (8±1) сут	9,15	2,56	444,00	0,02·10 ⁻¹

Таблица 8. Сравнительный анализ среднего содержания макрофагов в раневых отпечатках, полученных из ран и гнойно-некротических очагов на фоне инстилляций бактериофагов с локальным отрицательным давлением и при антибактериальной терапии
Table 8. Comparative analysis of the mean macrophage count in wound touch smears obtained from wounds and purulent-necrotic lesions during instillation of bacteriophages with local negative pressure and antibacterial therapy

Точка исследования	2-я группа (n=20) Основная: Пиофаг инстиляция+локальное отрицательное давление	3-я группа (n=30) Сравнения: левофлоксацин внутрь, внутривенно+мазь с офлоксацином на основе ПЭГ	U-критерий Манна—Уитни	p
	Макрофаги			
1 (2±1) сут	2,90	5,83	273,00	0,59
2 (4±1) сут	7,84	5,18	380,00	0,11
3 (6±1) сут	6,80	4,48	358,50	0,24
4 (8±1) сут	6,30	2,56	390,50	0,04

Таблица 9. Сравнительный анализ среднего содержания лимфоцитов в раневых отпечатках, полученных из ран и гнойно-некротических очагов на фоне терапии бактериофагами и при антибактериальной терапии
Table 9. Comparative analysis of the mean lymphocyte count in wound touch smears obtained from wounds and purulent-necrotic lesions during bacteriophage therapy and antibacterial therapy

Точка исследования	1-я группа (n=20) Основная: Пиофаг местно+внутри	3-я группа (n=30) Сравнения: левофлоксацин внутрь, внутривенно+мазь с офлоксацином на основе ПЭГ	U-критерий Манна—Уитни	p
	Лимфоциты			
1 (2±1) сут	1,16	3,10	268,00	0,52
2 (4±1) сут	2,62	1,73	377,00	0,12
3 (6±1) сут	3,90	3,73	399,00	0,05
4 (8±1) сут	4,60	1,15	403,00	0,03

гуляторные, так и модулирующие функции, способствуют неоваскуляризации и ремоделированию тканей, что важно для заживления [19, 20]. Отсутствие лимфоцитов в ране может привести к снижению ангиогенеза и ухудшению заживления, особенно при сахарном диабете [19].

В раневых отпечатках пациентов всех групп отмечали постепенное увеличение количества лимфоцитов в поле зрения, достоверно более выраженное в 1-й и 2-й группах по сравнению с 3-й группой (табл. 9, 10).

Клинически мы отмечали снижение воспалительных реакций, в связи с чем привлечение в раневое ложе лимфоцитов, особенно значимое для пациентов с инстилляцией фагов и ЛОД, может свидетельствовать об активизации локального иммунного ответа на фоне происходящего в ране ремоделирования тканей при лечении биологическими лекарственными средствами.

Таким образом, сравнительный анализ клеточного состава раневых отпечатков демонстрирует

Таблица 10. Сравнительный анализ среднего содержания лимфоцитов в раневых отпечатках, полученных из ран и гнойно-некротических очагов на фоне инстилляций бактериофагов с локальным отрицательным давлением и при антибактериальной терапии

Table 10. Comparative analysis of the mean lymphocyte count in wound touch smears obtained from wounds and purulent-necrotic lesions during instillation of bacteriophages with local negative pressure and antibacterial therapy

Точка исследования	2-я группа (n=20)	3-я группа (n=30)	U-критерий Манна—Уитни	p
	Основная:	Сравнения:		
	Пиофаг инстиляция+локальное отрицательное давление	левофлоксацин внутрь, внутривенно+мазь с офлоксацином на основе ПЭГ		
	Лимфоциты			
1 (2±1) сут	2,38	3,10	266,50	0,49
2 (4±1) сут	2,45	1,73	376,00	0,12
3 (6±1) сут	3,10	3,73	328,50	0,56
4 (8±1) сут	5,70	1,15	423,00	0,08·10 ⁻¹

классическую картину воспалительного ответа и ее постепенное угасание на фоне системной и местной антибактериальной терапии, в привычные хирургам сроки происходит переход течения раневого процесса в фазу регенерации, и это четко коррелирует с процессами, которые мы отмечаем клинически (купирование боли, отека, гиперемии, экссудации). Системное и местное использование бактериофагов в виде монотерапии или одновременно с вакуумированием усиливает местный воспалительный и иммунный ответы даже в хронических ранах пациентов с системными и аутоиммунными заболеваниями. Безусловно, необходимы молекулярно-генетические исследования раневого отделяемого для уточнения фенотипов содержащихся клеток и их роли в процессах регенерации при хронической хирургической инфекции у коморбидных больных.

Морфологическое и электронно-микроскопическое исследование

При морфологическом исследовании биоптатов ран в 3 группах пациентов в точке 1 исследования (2±1 сут) отмечали острое воспаление с обилием гнойно-некротических масс на поверхности раны, плотным лейкоцитарным инфильтратом с преобладанием нейтрофилов, в строме наблюдали выраженный отек с признаками лизиса.

Во точке 2 исследования (4±1 сут) во 2-й группе (инстиляция Пиофага и ЛОД) на фоне острого воспалительного процесса отмечали появление молодых фибробластов в виде пучков, что указывало на начало формирования грануляционной ткани. В 1-й и 3-й группах превалировали проявления гнойно-некротических процессов, признаки формирования грануляционной ткани полностью отсутствовали (рис. 4, а—в).

К точке 3 исследования (6±1 сут) в 1-й группе пациентов, получающих Пиофаг местно и внутрь

под слоем клеточного детрита отмечали формирующуюся грануляционную ткань с капиллярами, инфильтрацию нейтрофильными лейкоцитами. Во 2-й группе в равномерно созревающей грануляционной ткани отмечали большое количество сосудов капиллярного типа с тонкими стенками, что имеет огромное значение в физиологической регенерации ткани. Воспалительная инфильтрация носила смешанный характер, встречались единичные нейтрофилы. В 3-й группе (системная и местная антибактериальная терапия) у пациентов сохранялась выраженная нейтрофильная инфильтрация в виде струпа. Грануляции формировались неравномерно, в виде разрозненных толстостенных капилляров с узким просветом (рис. 4, г—е).

К точке 4 исследования (8±1 сут) в 1-й группе больных в формирующейся грануляционной ткани определяли увеличение клеточной плотности по сравнению с предыдущим сроком, при этом фибробласты не имели четкую ориентацию, что указывало на низкую зрелость грануляционной ткани и нарушения ее формирования. Воспалительная инфильтрация сохранялась и носила смешанный характер с примесью нейтрофилов. Во 2-й группе пациентов раневые дефекты были заполнены грануляционной тканью с вертикально ориентированными сосудами, небольшим количеством фибробластов, что характерно для зрелой грануляционной ткани. Воспалительная инфильтрация носила очаговый характер. В 3-й группе больных раны были заполнены грануляциями со смешанной воспалительной инфильтрацией, в пучках фиброцитов содержались сегментоядерные лейкоциты. Оставалось значительное количество сосудов с утолщенной стенкой (рис. 4, ж—и).

Как показало проведенное микробиологическое исследование, во всех группах больных наблюдали рост условно-патогенных возбудителей хирургических инфекций кожи и мягких тканей (главным образом стафилококков). Известно, что практически все бактериальные возбудители синтезируют боль-

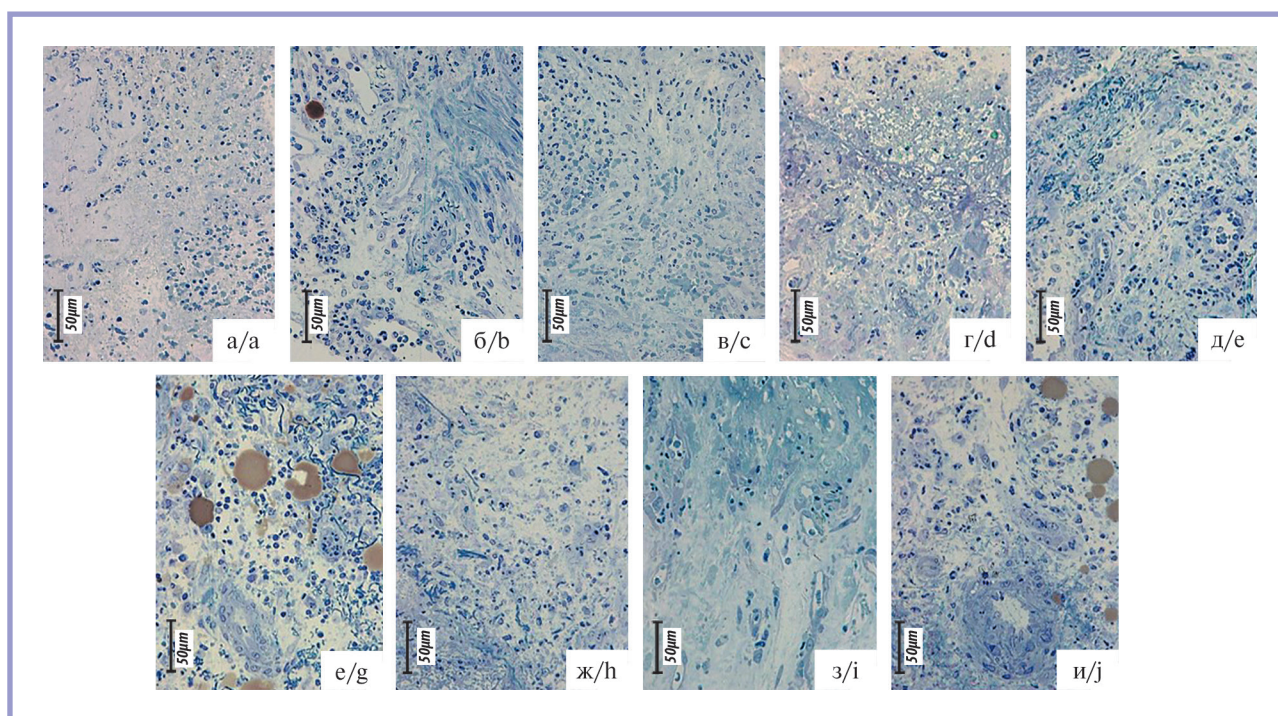


Рис. 4. Морфологические изменения в гнойно-некротических ранах в процессе лечения.

а—в — точка 2 исследования: а — 1-я группа: клеточный детрит, нейтрофильные лейкоциты, отек и лизис стромы; б — 2-я группа: в воспалительном вале пучки активированных фибробластов наблюдается формирование молодой грануляционной ткани; в — 3-я группа: клеточный детрит, нейтрофильные лейкоциты, отек и лизис стромы; г—е — точка 3 исследования: г — 1-я группа: формирующаяся грануляционная ткань, отсутствие четкой ориентации фибробластов; д — 2-я группа: равномерно созревающая грануляционная ткань с большим количеством сосудов капиллярного типа с тонкими стенками; е — 3-я группа: смешанная воспалительная инфильтрация грануляционной ткани с толстостенными капиллярами и узким просветом; ж—и — точка 4 исследования: ж — 1-я группа: клеточный детрит с нейтрофильными лейкоцитами, грануляции не формируются; з — 2-я группа: грануляционная ткань с вертикально ориентированными сосудами, небольшим количеством фибробластов; и — 3-я группа: смешанная воспалительная инфильтрация грануляционной ткани с толстостенными капиллярами и узким просветом.

Fig. 4. Morphological changes in purulent-necrotic wounds during treatment.

а—с — timepoint 2 of the study: а — group 1: cell debris, neutrophilic leukocytes, edema, and stromal lysis; б — group 2: activated fibroblast bundles in the inflammatory bank and the formation of immature granulation tissue; в — group 3: cell debris, neutrophilic leukocytes, edema, and stromal lysis; д—ф — timepoint 3 of the study: д — group 1: forming granulation tissue, lack of clear orientation of fibroblasts; е — group 2: uniformly maturing granulation tissue with many thin-walled capillary-type vessels; ф — group 3: mixed inflammatory infiltration of the granulation tissue with thick-walled capillaries with a narrow lumen; г—и — timepoint 4 of the study: г — group 1: cell debris with neutrophilic leukocytes, no granulations are formed; ж — group 2: granulation tissue with vertically oriented vessels, few fibroblasts; и — group 3: mixed inflammatory infiltration of the granulation tissue with thick-walled capillaries with narrow lumen.

шое количество внеклеточного полисахарида, образуя защитную биопленку вокруг колонии. Бактерии внутри биопленки более устойчивы к воздействию защитных сил организма и антимикробным препаратам. Поскольку *S. aureus* принадлежит ведущая роль в формировании микробных биопленок, было проведено электронно-микроскопическое исследование состояния биопленок в 3 анализируемых группах пациентов.

В точке 1 исследования во всех группах больных биопленку находили в гнойно-некротических ранах с неизменными микроорганизмами, заключенными в однородный полисахаридный матрикс (рис. 5, а).

В точках исследования 2 и последующих в 1-й и 2-й группах пациентов отмечали набухание, расслоение и фрагментацию биопленки (рис. 5, б). Микробные клетки претерпевали деструктивные ультраструк-

турные изменения, прогрессирующие к точке 4 исследования (рис. 5, в). Отмечали лизис цитоплазмы бактериальных клеток и фрагментарное отсутствие клеточной стенки. Деструкции подвергался матрикс биопленок — он терял однородность, просветлялся, появлялись тонкие электронно-плотные нити, идущие в разных направлениях (см. рис. 5, б, в).

В срезах, полученных из ран больных 3-й группы, мы также отмечали деструкцию биопленки и заключенных в нее микроорганизмов (рис. 5, г, д), однако эти изменения были не столь выраженными и наблюдались не во всех препаратах (хотя в целом подтверждались данные литературы об эффективности фторхинолонов в отношении биопленочных форм чувствительных микроорганизмов).

Таким образом, у пациентов 3 групп при сохранении фазности течения раневого процесса, харак-

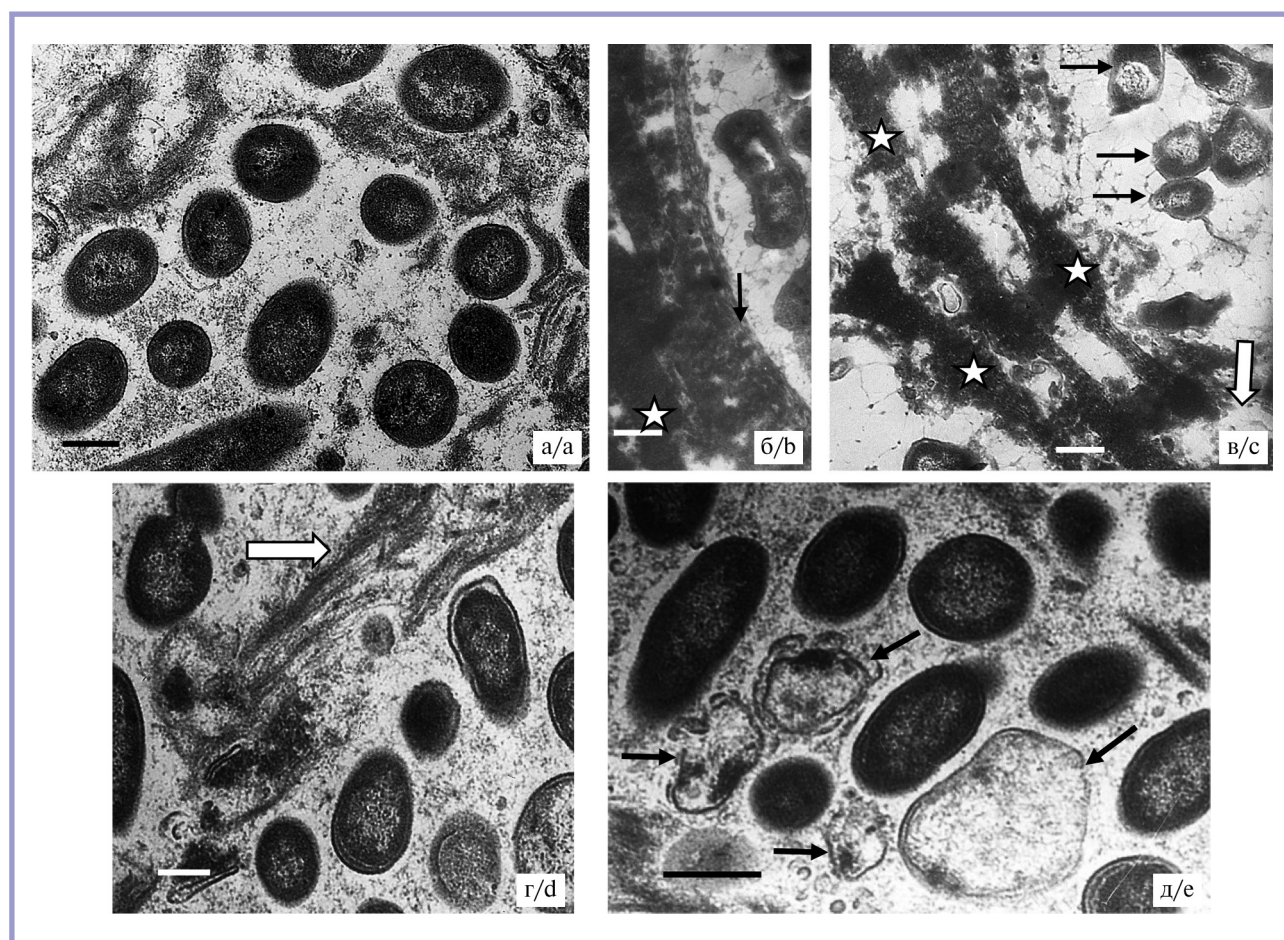


Рис. 5. Состояние биопленки в гнойно-некротических ранах в процессе лечения. Трансмиссионная электронная микроскопия.

а — точка 1 исследования в 1-й группе: фрагмент биопленки с неизменными микробными клетками; б — точка 4 исследования в 1-й группе: фрагмент биопленки, микробная клетка (стрелка) заключенная в набухшую, расслоенную биопленку (звездочка); в — точка 4 исследования во 2-й группе: расслоение биопленки (звездочка) и потеря ее целостности (белая стрелка), микробные клетки (стрелка) с участками лизиса цитоплазмы; г — точка 4 исследования в 3-й группе: расслоение биопленки (стрелка); д — точка 4 исследования в 3-й группе: деструктивные изменения микробных клеток (стрелки). Длина масштабной линии соответствует 1 мкм.

Fig. 5. The biofilm condition in purulent-necrotic wounds during treatment. Transmission electron microscopy.

а — timepoint 1 of the study in group 1: a biofilm fragment with intact microbial cells; б — timepoint 4 of the study in group 1: a biofilm fragment, a microbial cell (arrow) enclosed in a swollen and stratified biofilm (asterisk); в — timepoint 4 of the study in group 2: biofilm stratification (asterisk) and loss of its integrity (white arrow), microbial cells (arrow) with areas of cytoplasmic lysis; д — timepoint 4 of the study in group 3: biofilm stratification (arrow); е — timepoint 4 of the study in group 3: destructive changes in microbial cells (arrows). The length of the scale line corresponds to 1 μ m.

терных для всех ран, отмечали различия по скорости отдельных процессов. Так, во 2-й группе комплексное применение ЛОД и фаготерапии привело к более быстрому завершению фазы воспаления и переходу раневого процесса в репаративную фазу по сравнению с таковым у больных 1-й и 3-й групп, приблизившись к срокам перехода при раневом процессе, не осложненном хирургической инфекцией. Уже в точке 2 исследования (4 ± 1 сут) во 2-й группе отмечали начало формирования грануляционной ткани, в 1-й и 3-й группах этот процесс происходил позже — в точках 3 и 4 исследования. Сокращение по времени первой фазы является необходимым условием для скорейшего развития и созревания грануляци-

онной ткани, а в итоге, успешного завершения заживления гнойно-некротических ран любой этиологии и локализации.

Обсуждение

После открытия бактериофагов интерес к ним экспоненциально нарастал, а опыт успешного клинического использования накапливался. Мы обнаружили много работ отечественных ученых, вышедших в военное и послевоенное время, посвященных успешному применению монофаговой и комбинированной (вместе с хирургическим лечением) те-

рапии в лечении тяжелой хирургической инфекции [21—23]. После 60-х годов XX века и вплоть до последних лет в доступной литературе сравнительных клинических и экспериментальных исследований эффективности фаговой терапии не найдено. Вероятнее всего, это связано с реформой фармакопеи. Впервые отдельная статья, посвященная бактериофагам, появилась в VIII фармакопее СССР, вышедшей в 1946 г. Однако вплоть до 1961 г. никаких требований к данным иммунобиологическим средствам не предъявляли, в связи с чем у клиницистов и микробиологов была возможность индивидуального подбора бактериофагов и приготовление коктейлей из них непосредственно «у постели больного». Начиная с IX фармакопеи, требования ужесточились, к показателям качества стали относить не только мутность, цветность и прозрачность, но и стерильность, микробиологическую чистоту, безвредность, стабильность, наличие примесей, пирогенность и др. [24]. Готовить и использовать коктейли из фагов, являющихся биологическими лекарственными препаратами, *ex tempore* стало невозможно, и это затормозило их применение вплоть до появления официальных растворов.

В настоящее время коллекция фагов продолжает пополняться, микробиологические лаборатории многих лечебных учреждений передают образцы резистентных и полирезистентных штаммов, а готовые растворы, реализуемые через аптечную сеть, приближаются по своей эффективности к антибактериальным средствам широкого спектра действия (в частности, в нашей стране такую работу проводит крупнейший производитель иммунобиологических препаратов АО «НПО Микроген», Россия).

Заключение

Принципы лечения коморбидных больных с тяжелой хирургической инфекцией мягких тканей и костей в нашей стране по-прежнему строятся на методе активного хирургического лечения ран, разработанного в отделе ран и раневых инфекций Института хирургии им. А.В. Вишневского (ныне ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава РФ) [25]. Применительно к первой фазе течения раневого процесса результаты лечения во многом будут зависеть от радикальности и тщательности первичной хирургической обработки гнойного очага, общего и местного лечения в периоперационном периоде. Возрастающая проблема резистентности, формирование

в хронических ранах биопленочных форм возбудителей, коморбидность, ограничивающая применение ряда антибиотиков резерва в виду их токсичности — определяют важность поиска альтернативных протоколов лечения таких сложных клинических ситуаций.

Результаты проведенного исследования продемонстрировали высокую эффективность бактериофагов как в монотерапии путем местного и системного использования, так и в сочетании с ЛОД, для лечения ран и гнойно-некротических очагов у коморбидных пациентов. Это подтверждено не только клинически, но и данными микробиологических, цитологических, морфологических и электронно-микроскопических исследований. Мы не заметили клинически значимых побочных реакций или плохой переносимости препарата Пиофаг. По нашему мнению, актуальность всех обсужденных в статье вопросов будет увеличиваться, и привычные способы (антибактериальные мази, растворы антибиотиков) не во всех случаях будут эффективны. Считаем крайне востребованным для практического здравоохранения продолжать исследовать и внедрять в комплексное лечение хирургической инфекции препараты бактериофагов, разрабатывать новые пути их доставки в очаг для поддержания необходимой концентрации и активности. В связи с этим для лечения раневой инфекции (в отсутствие противопоказаний и при наличии оборудования и расходных материалов) очень хорошо себя показывает инстилляционная вакуумная терапия, хотя возможно появление новых лекарственных форм (губок, гидрогелей) или имплантируемых устройств (протезы, шовный материал, импланты), покрытых бактериофагами.

Участие авторов:

Концепция и дизайн — Митиш В.А.

Сбор и обработка материала — Митиш В.А., Хамидулин Г.В., Пасхалова Ю.С., Демидова В.С., Терехова Р.П., Паклина О.В.

Написание текста — Хамидулин Г.В., Пасхалова Ю.С., Чекмарева И.А.

Редактирование — Пасхалова Ю.С., Митиш В.А.

Работа выполнена в рамках постмаркетингового исследования «Исследование эффективности и безопасности препарата «Пиобактериофаг комплексный» жидкий в лечении гнойных ран различной этиологии и локализации у взрослых с 18 до 60 лет», финансируемого АО «НПО Микроген» по договору №220920000301-220920000301-1-9200-196 от «02» августа 2022 года.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Phage therapy of wound-associated infections. *Folia Microbiologica* [Electronic resource]. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12223-021-00946-1> (accessed: 01.10.2024).
2. Taati Moghadam M. How Phages Overcome the Challenges of Drug-Resistant Bacteria in Clinical Infections. *Infection and Drug Resistance*. *Dove Medical Press*. 2020;13:45-61.
3. Moghadam MT. Bacteriophages, a New Therapeutic Solution for Inhibiting Multidrug-Resistant Bacteria Causing Wound Infection: Lesson from Animal Models and Clinical Trials. *DDDT*. *Dove Press*. 2020;14:1867-1883.
4. Summers WC. Félix Hubert d'Herelle (1873-1949): History of a scientific mind. *Bacteriophage*. 2017;6:e1270090.
5. Principi N, Silvestri E, Esposito S. Advantages and Limitations of Bacteriophages for the Treatment of Bacterial Infections. *Front Pharmacol*. 2019;10.
6. Domingo-Calap P, Delgado-Martínez J. Bacteriophages: Protagonists of a Post-Antibiotic Era. *Antibiotics*. 2018;7(3):66.
7. Pinto AM. Bacteriophages for Chronic Wound Treatment: From Traditional to Novel Delivery Systems: 2. Viruses. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*. 2020;12(2):235.
8. Mulzer J, Trampuz A, Potapov EV. Treatment of chronic left ventricular assist device infection with local application of bacteriophages. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2020;57(5):1003-1004.
9. Митиш В.А., Хамидулин Г.В., Паскалова Ю.С. Комплексное хирургическое лечение рецидивирующего постинъекционного абсцесса на фоне системного аутоиммунного заболевания. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2023;2:123-133.
10. Mitish VA. Complex surgical treatment of recurrent post-injection abscess in a patient with systemic autoimmune disease. *Khirurgia. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2023;12:123-133. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/hirurgia2023121123>
11. Бесчастнов В.В., Рябков М.Г., Юданова Т.Н. Новая возможность применения бактериофагов для профилактики инфекционных осложнений при свободной кожной пластике (бактериофаги при кожной пластике). *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(1):16-22.
12. Beschastnov VV. New possibility of application of bacteriophages to prevent infectious complications in free skin grafting (bacteriophages in skin grafting). *Bull. sib. med.*. 2021;20(1):16-22. (In Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-16-22>
13. Sybesma W. Bacteriophages as Potential Treatment for Urinary Tract Infections. *Front Microbiol*. 2016;7.
14. Leitner L, McCallin S, Kessler TM. Bacteriophages: what role may they play in life after spinal cord injury? *Spinal Cord*. 2021;59(9):967-970.
15. Phillipson M, Kubes P. The Healing Power of Neutrophils. *Trends in Immunol*. 2019;40(7):635-647.
16. Wilgus TA, Roy S, McDaniel JC. Neutrophils and Wound Repair: Positive Actions and Negative Reactions. *Advanc Wound Care*. 2013;2(7):379-388.
17. Wang J. Neutrophils in tissue injury and repair. *Cell Tissue Res*. 2018;371(3):531-539.
18. Krzyszczyk P. The Role of Macrophages in Acute and Chronic Wound Healing and Interventions to Promote Pro-wound Healing Phenotypes. *Front Physiol*. 2018;9:419.
19. Kim SY, Nair MG. Macrophages in wound healing: activation and plasticity. *Immunol Cell Biol*. 2019;97(3):258-267.
20. Li M. Macrophage Related Chronic Inflammation in Non-Healing Wounds. *Front Immunol*. 2021;12:681710.
21. Seraphim PM. Lack of lymphocytes impairs macrophage polarization and angiogenesis in diabetic wound healing. *Life Sci*. 2020;254:117813.
22. Wang X. T Lymphocytes Attenuate Dermal Scarring by Regulating Inflammation, Neovascularization, and Extracellular Matrix Remodeling. *Advances in Wound Care*. 2019;8(11):527-537.
23. Покровская М.П., Каганова Л.С., Морозенко М.А., Булгакова А.Г., Скаценко Е.Е. Лечение ран бактериофагами. М.: Медгиз, 1941. (In Russ.).
24. Pokrovskaja MP, Kaganova LS, Morozenko MA, Bulgakova AG, Skacenko EE. Lechenie ran bakteriofagami. M.: Medgiz, 1941. (In Russ.).
25. Гориневская В.В. Современные методы лечения ран. М.: Медгиз, 1942.
26. Gorinevskaja VV. Sovremennyye metody lecheniya ran. M.: Medgiz, 1942. (In Russ.).
27. Колесов В.И. Бактериологический контроль и фаготерапия в гнойной хирургии. М.: АМН СССР, 1948.
28. Kolesov VI. Bakteriologicheskij kontrol' i fagoterapija v gnojnoj hirurgii. M.: AMN SSSR, 1948. (In Russ.).
29. Каргина Т.М., Осипова И.Г., Саканян Е.И., Мовсисянц А.А. История разработка фармакопейных стандартов качества на биологические лекарственные препараты и методы испытаний в России. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2016;16(3):131-138.
30. Kargina TM, Osipova IG, Sakanjan EI, Movsesjanc AA. Istorija razrabotka farmakopejnyh standartovkachestva na biologicheskie lekarstvennye preparaty i metody ispytaniy v Rossii. BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie. 2016;16(3):131-138. (In Russ.).
31. Кузин М.И., Костючунук Б.М. Раны и раневая инфекция. М.: Медицина, 1990.
32. Kuzin MI, Kostjuchunok BM. Rany i ranevaja infekcija. M.: Medicina, 1990. (In Russ.).

Поступила/Received 10.01.2025
Принята к печати/Accepted 28.01.2025