

ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ДЕЭПИТЕЛИЗИРОВАННОГО КОНСЕРВИРОВАННОГО КОЖНОГО АУТОИМПЛАНТА, ПРИМЕНЯЕМОГО В ХИРУРГИИ СРЕДИННЫХ ВЕНТРАЛЬНЫХ ГРЫЖ

Топчиев А.М.¹, Топчиев М.А.¹, Паршин Д.С.¹, Мухтаров И.А.¹, Смирнягина Е.О.²

¹ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, e-mail: parshin.doc@gmail.com;

²ГБУЗ АО «ГКБ № 3», Астрахань, e-mail: gkb3@mail.ru

Данное экспериментальное микробиологическое исследование посвящено изучению некоторых свойств аутоотрансплантата, используемого в герниологии. Целью исследования явилось изучение антимикробной активности дезэпителизированного консервированного кожного аутоотрансплантата, применяемого для укрепления анатомических структур при срединных послеоперационных грыжах. Использованы клинические госпитальные изоляты: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Выделение и идентификацию использованных культур возбудителей проводили с использованием анализатора «ВИТЕК 2 Compact 30 4700733». Способность подавлять развитие микроорганизмов изучалась методом диффузии в агаре. В опытной группе исследования (n=30) забор материала производился у больных во время операций при иссечении и формировании кожного аутоимплантата. Кожный лоскут подготавливался по оригинальной авторской методике, которая включала в себя его дезэпителизацию дерматомом, консервацию в специальном растворе, содержащем оксигенированный препарат. В контрольных группах исследования использовали антибиотические диски, пропитанные цефтриаксоном (1 г), а также аутодермальный имплантат, приготовленный по В.Н. Янову. При бактериологическом исследовании установлено, что консервированный дезэпителизированный трансплантат существенно повышает антимикробные свои свойства. Зона задержки роста в зависимости от возбудителя составила от 35 до 55 мм. При анализе антимикробного воздействия на флору дисков, пропитанных препаратом цефтриаксон, получили зону задержки роста в зависимости от штаммов от 0,1 до 11 мм. Анализ полученных результатов позволил дать оценку антимикробной активности дезэпителизированного консервированного свободного кожного аутоотрансплантата и сделать выводы, что он, сохраняя все свойства биологической ткани, показал способность подавлять рост госпитальной флоры более чем в 3-5 раз активнее, чем обычное местное воздействие антибиотика. Данные экспериментального исследования говорят об аргументированности применения дезэпителизированного консервированного свободного кожного имплантата в профилактике инфекционных осложнений в зоне хирургического вмешательства и возможности более широкого его применения в хирургии вентральных грыж.

Ключевые слова: срединные вентральные грыжи, дезэпителизированный аутодермальный трансплантат, антибактериальная активность, гнойные осложнения, герниология.

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF DE-EPITHELISED, PRESERVED SKIN AUTOIMPLANT USED IN MEDIAL VENTRAL HERNIA SURGERY

Topchiev A.M.¹, Topchiev M.A.¹, Parshin D.S.¹, Mukhtarov L.A.¹, Smirnyagina E.O.²

¹Astrakhan State Medical University, MHP of Russia, Astrakhan, e-mail: parshin.doc@gmail.com;

²State Healthcare Institution of the Astrakhan Region City Clinical Hospital No. 3, Astrakhan, e-mail: gkb3@mail.ru

The experimental microbiological study is devoted to the study of some properties of an autograft used in herniology. The aim of the study was to study the antimicrobial activity of a de-epithelized, preserved skin autograft used to strengthen anatomical structures in medial postoperative hernias. Clinical hospital isolates were used: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Isolation and identification of used exciter cultures was carried out using the "VITEK 2 Compact 30 4700733" analyzer. The ability to suppress the development of microorganisms was studied by diffusion in agar. In the experimental study group (n = 30), material was taken from patients during operations for excision and formation of skin autoimplant. The skin flap was prepared using the original author's technique, which included its de-epithelization with dermatoma, preservation in a special solution containing oxygenated drug. In the control groups of the study, we used antibiotic discs impregnated with ceftriaxone (1 g), as well as an autodermal implant prepared according to V.N. Yanov. At bacteriological examination it is established that preserved de-epithelised transplant significantly increases antimicrobial properties. The growth delay zone depending on the pathogen was from 35 mm to 55 mm. In the analysis of the antimicrobial effect on the flora of the disks impregnated with ceftriaxone preparation, a growth retardation zone was obtained depending on the strains from 0.1 to 11 mm. The analysis

of the results obtained made it possible to assess the antimicrobial activity of the de-epithelized preserved free skin autograft and conclude that it retained all the properties of biological tissue and showed the ability to suppress the growth of the hospital flora more than 3-5 times more active than usual local antibiotic exposure. The data of the experimental study suggests that the use of a de-epithelized preserved free skin implant in the prevention of infectious complications in the surgical zone and the possibility of its wider use in ventral hernia surgery is justified.

Keywords: median ventral hernias, de-epithelized autodermal graft, antibacterial activity, purulent complications, herniology.

Несмотря на внедрение малоинвазивных технологий в абдоминальной хирургии, число открытых операций, особенно в ургентной хирургии, не уменьшилось. Одним из осложнений лапаротомий является образование послеоперационных грыж, которые регистрируются у 15-25% оперированных. Процент рецидивов увеличивается до 35% и более у больных с сопутствующей патологией (наличие системной дисплазии соединительной ткани, ожирение, сахарный диабет и др.). При этом нужно отметить, что более 50% рецидивов после вмешательства регистрируется в первые два года после операции [1].

Срединные вентральные грыжи в линейке наружных грыж составляют 17,5%. Хирургическое лечение рецидивов приводит к возврату заболевания от 3 до 22% оперированных [2-4]. В настоящее время стандартом хирургии срединных послеоперационных и рецидивных срединных грыж является герниопластика с использованием протезирующих материалов [5-7]. Широкое внедрение протезирующей герниопластики при срединных грыжах значительно улучшило результаты лечения этих больных, снижая частоту рецидива, улучшая качество жизни пациентов [8; 9].

Однако применение протезирующих материалов не всегда дает положительные результаты. Это касается, прежде всего, частоты раневых послеоперационных осложнений, достигающих, по данным ряда авторов, 21–49% и выше. По мнению исследователей, количество осложнений зависит от состава материала имплантата, его покрытия, тканевой реакции на него, расположения по отношению к анатомическим структурам передней брюшной стенки, брюшной полости. Инфекционные осложнения в области хирургического вмешательства наиболее часто встречаются в структуре осложнений. Частота их достигает выше 21,5% случаев. Как у нас в стране, так и за рубежом имеются исследования, в основе которых лежит нанесение на протез композиционных смесей, в состав которых входит высокодисперсное серебро, а также смеси йодопирона и мезогеля и пр. однако их применение связано с возрастанием стоимости как самих протезирующих имплантатов, так и в целом операции [10; 11].

В последнее время в современной герниологии определенным трендом является использование биологических имплантатов. Перспективными являются разработки по культивированию собственного коллагена на культуре тканей. Однако данные технологии являются очень дорогостоящими, кроме того, требуют значительного времени. В настоящее

время наиболее часто в качестве биологического аутотрансплантата используется кожа пациента. Аутокожа подготавливается, с целью удаления ее дериватов, различными методами: термическим (метод В.Н. Янова), диатермоэлектрокоагуляцией либо лазерной абляцией. Недостатком всех этих методов является денатурация белков сетчатого слоя дермы вследствие воздействия высокой температуры. Это негативно сказывается на эластических свойствах имплантата и качестве его приживления [12].

Имеющиеся способы предупреждения раневой инфекции (периоперационное ведение антибиотиков, профилактика образования экссудата и др.) не в полной мере снижают инфекционные осложнения. Поэтому придание имплантату антимикробной активности к госпитальным штаммам бактерий в алгоритме профилактики раневых осложнений является очень важным.

Целью данного исследования явилось изучение бактерицидных и бактериостатических свойств деэпителизованного консервированного кожного аутотрансплантата, используемого для укрепления анатомических структур в хирургии срединных послеоперационных вентральных грыж.

Материал и методы исследования

Антибактериальную активность деэпителизованного консервированного свободного кожного аутотрансплантата в растворе оксигенированной воды и цефтриаксона изучали на наличие госпитальных штаммов бактерий на базе кафедры общей хирургии с курсом последипломного образования Астраханского ГМУ и сертифицированной бактериологической лаборатории ГБУЗ АО «ГКБ № 3» г. Астрахань. Были использованы клинические госпитальные изоляты грамотрицательных (*Escherichia coli*), неферментирующих бактерий (*Pseudomonas aeruginosa*) и грамположительных (*Staphylococcus aureus*). Выделение и идентификацию использованных культур возбудителей проводили с использованием анализатора VITEK 2 Compact 30 4700733 (Франция). Способность подавлять развитие микроорганизмов определяли методом диффузии в агаре. Исследования выполнены согласно рекомендациям Европейского общества по клинической микробиологии и инфекционным болезням «Определение чувствительности к антимикробным препаратам» диско-диффузионным методом EUCAST (версия 6.0, 2017 г.). Пограничные значения диаметров зон подавления роста калиброваны по отношению к гармонизированным европейским пограничным значениям, которые опубликованы EUCAST и расположены в свободном доступе.

В опытной группе исследования забор материала производился у больных во время операций при иссечении и формировании кожного аутоимплантата. Кожный лоскут подготавливался по оригинальной авторской методике, которая включала в себя его

деэпителизацию дерматомом, консервацию в специальном растворе, содержащем антибиотик цефтриаксон (1 г) и оксигенированный препарат (50 мл) [13]. Консервирующая подготовка трансплантата проводилась в течение 60-80 минут после его забора. Масса аутоотрансплантатов составляла $3 \pm 0,2$ г. Проведено 30 исследований (рис. 1).



а

б

Рис. 1. Этапы подготовки аутодермального трансплантата (а – деэпителизация при помощи циркулярного дерматома, б - консервация в растворе)

Суточные культуры бактерий засеивали шпателем на среду Мюллера – Хиптена (Санкт-Петербург) или Уро Агар в концентрации 10^5 КОЕ в 1 мл взвеси. С соблюдением правил подготовки инокулята и инокуляции чашек с агаром добивались формирования равномерного сплошного слоя бактериального роста (газон). Кусочки консервированного деэпителизованного кожного аутоотрансплантата наносили на газон бактерий. Посев инкубировался в термостате на протяжении 18-24 часов при t 37 °С. При измерении зон подавления роста ориентировались на зону полного подавления роста микроорганизмов, определяемую невооруженным глазом при расположении чашки примерно в 30 см от глаз. Измерение зон подавления роста проводили с точностью до миллиметра при помощи штангенциркуля. По диаметру задержки роста определяли антимикробную активность. Отсутствие зоны задержки роста: бактерии не восприимчивы к препарату - R. Зона задержки роста диаметром выше 10 мм интерпретировалась как высокая чувствительность микробов. В качестве контроля мы использовали две группы по 30 исследований. В первой контрольной группе исследования использовали антибиотические диски, пропитанные препаратом цефтриаксон (1 г). Во второй контрольной группе использовали аутодермальный трансплантат, подготовленный по методике В.Н. Янова [14].

Статистическую обработку полученных данных проводили методами параметрической статистики с помощью программ SPSS 11.5, Statistica7.0, MS Excel. Различия значений считали значимыми при уровне вероятности 95% ($p \leq 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования позволили установить, что консервированный по авторской методике дезэпителизированный аутотрансплантат в консерванте, состоящем из оксигенированной воды и цефтриаксона в соотношении 50 мл оксигенированной воды и 1 грамм цефтриаксона, существенно повышает антимикробные свойства. Зона задержки роста в зависимости от возбудителя колебалась от 35 до 55 мм (рис. 2).



Рис. 2. Зоны подавления роста госпитальных изолятов (*Escherichia coli* – а, *Pseudomonas aeruginosa* – б, *Staphylococcus aureus* – в) с использованием дезэпителизированного консервированного кожного аутотрансплантата

При сравнительном анализе антимикробного воздействия мы провели тест на чувствительность флоры на цефтриаксон. При интерпретации результатов в первой контрольной группе было установлено, что антимикробная активность дисков с цефтриаксоном была значительно меньше, чем воздействие на флору консервированного дезэпителизированного аутотрансплантата. Она колебалась в зависимости от штаммов от 0,1 до 11 мм (рис. 3).



a

b

c

Рис. 3. Зоны подавления роста госпитальных изолятов (*Escherichia coli* – a, *Pseudomonas aeruginosa* – b, *Staphylococcus aureus* – c) с использованием антибиотических дисков (цефтриаксон 1,0)

Во второй контрольной группе с применением аутодермального трансплантата, приготовленного по методике В.Н. Янова, не отмечено зон подавления роста госпитальных изолятов (рис. 4).



a

b

c

Рис. 4. Отсутствие зон подавления роста госпитальных изолятов (*Escherichia coli* – a, *Pseudomonas aeruginosa* – b, *Staphylococcus aureus* – c) с использованием аутодермального трансплантата, приготовленного по методике В.Н. Янова

Количественные данные, характеризующие антимикробные свойства дезэпителизованного консервированного аутодермального трансплантата, в сравнении с антибиотическими дисками представлены в таблице.

Антимикробные свойства в группах исследования ($p \leq 0,05$)

| Группы исследования (n=90) | Зона подавления роста (мм) госпитальных изолятов | | |
|---|--|------------------------|-----------------------|
| | Escherichia coli | Pseudomonas aeruginosa | Staphylococcus aureus |
| Консервированный аутодермальный трансплантат (n=30) | 35,3±1,2* | 41,1±1,1* | 55,2±1,3* |
| Антибиотические диски (цефтриаксон, 1 г) (n=30) | 8,6±0,5 | 0,12±0,4 | 11,3±0,3 |
| Аутодермальный трансплантат по В.Н. Янову (n=30) | R | R | R |

*- значения в группах при значении $p \leq 0,05$.

Таким образом, антимикробные свойства аутотрансплантата по сравнению с первой контрольной группой в отношении Escherichia coli были выше на 75,6%, в исследованиях со штаммами Pseudomonas aeruginosa – 99,5%, а при использовании в качестве изолята Staphylococcus aureus – 79,5%.

Сложность в анализе результатов состояла в том, что экспериментальные исследования, проводимые по антибактериальной активности применяемых имплантатов, очень немногочисленны. А работ по изучению антимикробной активности деэпителизированного свободного кожного аутотрансплантата в доступных источниках и электронных ресурсах мы не встречали.

В работах по антимикробной активности, в основном аллопротезов, отмечалось, что эта активность составляет от 7 до 20 мм в зависимости от возбудителя [15]. Проведенные исследования бактерицидных свойств деэпителизированного консервированного свободного кожного аутотрансплантата позволили установить его высокие бактерицидные свойства, которые были в зависимости от возбудителя в пределах 35–55 мм, т.е. в 3–5 раз выше, чем воздействие дисков, пропитанных цефтриаксоном.

Во второй контрольной группе, где исследовался аутодермальный имплантат по В.Н. Янову, антимикробных свойств в отношении госпитальных штаммов возбудителей отмечено не было. Данное обстоятельство можно рассматривать как неблагоприятный фактор для развития имплантационной инфекции в зоне операционного вмешательства.

Таким образом, на наш взгляд, пропитанный консервантом деэпителизированный кожный имплантат сохраняет свои высокие бактерицидные свойства за счет входящего в состав консерванта - оксигенированного препарата, который потенцирует действие антибактериального препарата.

Заключение

Данные экспериментального исследования говорят об аргументированности применения деэпителизованного консервированного свободного кожного имплантата в профилактике инфекционных осложнений в зоне хирургического вмешательства и о возможности более широкого его применения в хирургии вентральных грыж.

Список литературы

1. Awaiz A., Rahman F., Hossain M.B., Yunus R.M., Khan S., Memon B., Memon M.A. Meta-analysis and systematic review of laparoscopic versus open mesh repair for elective incisional hernia. *Hernia*. 2015. Vol. 19(3). P. 449-63. DOI: 10.1007/s10029-015-1351-z.
2. Федосеев А. В., Муравьев С. Ю., Авдеев С. С., Газуани А. Пупочные грыжи и патогенетическое обоснование выбора их коррекции // *Анналы хирургии*. 2013. №6. С. 5–11.
3. Калиев Д.Р., Кчибеков Э.А., Зурнаджянц В.А., Коханов А.В., Сердюков М.А. Анализ различных видов полипропиленовых имплантов при хирургическом лечении вентральных грыж // *Астраханский медицинский журнал*. 2017. №4. С. 6-12.
4. Iyer U.R., Merchant A.M. Outcomes of Ventral Hernia Repair in Solid Organ Transplant Patients: A Regression Analysis of the National Inpatient Sample. *J. Surg Res*. 2019. Vol. 239 P. 284-291. DOI: 10.1016/j.jss.2019.02.016.
5. Holihan J.L., Nguyen D.H., Nguyen M.T., Mo J., Kao L.S., Liang M.K. Mesh Location in Open Ventral Hernia Repair: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *World J. Surg*. 2016. Vol. 40(1). P. 89-99. DOI: 10.1007/s00268-015-3252-9.
6. Михин И. В., Панчишкин А.С., Рясков Л.А., Абрамян Е.И. Использование жидких и пленчатых противоспаечных барьерных средств при хирургическом лечении спаечной болезни, обусловленной послеоперационными грыжами передней брюшной стенки // *Вестник хирургической гастроэнтерологии*. 2016. №3. С.163-163.
7. Самарцев В.А., Кузнецова М.В., Кузнецова М.П., Афанасьевская Е.В. Экспериментальное обоснование использования противоспаечного барьера на основе коллагена в комбинации с биоцидами в условиях абдоминальной хирургической инфекции // *Современные технологии в медицине*. 2018. №10(2). С. 66–75. DOI: 10.17691/stm2018.10.2.07.
8. Паршиков В.В., Логинов В.И. Техника разделения компонентов брюшной стенки в лечении пациентов с вентральными и послеоперационными грыжами (обзор) // *Современные технологии в медицине*. 2016. №8(1). С. 183-194.

9. Горбунова Е.А. Гнойно-воспалительные осложнения после вентропластики (вопросы профилактики и лечения) // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2011. №1. С.73-79.
10. Власов А.В., Кукош М.В. Проблема раневых осложнений при эндопротезировании брюшной стенки по поводу вентральных грыж // Современные технологии в медицине. 2013. №5. С. 116-124.
11. Tollens T., Struyve D., Aelvoet C., Vanrijkel J.P. Introducing the Proceed Ventral Patch as a new device in surgical management of umbilical and small ventral hernias: preliminary results. Surg. Technol. Int. 2010. Vol. 19. P.99-103.
12. Bitterman N., Ben-Nun O., Calderon N., Brodsky A., Matter I., Sroka G. Use of autologous dermal flap as mesh coverage in the treatment of large abdominal-wall defect in patients following massive weight loss: presentation of a novel surgical technique. Hernia. 2020. 24. 387–393 DOI: 10.1007/s10029-020-02127-4.
13. Топчиев М.А., Магомедов М.А., Топчиев А.М. Способ подготовки аутотрансплантата для герниопластики // Патент на изобретение RU № 2011132679/14, от 03.08.2011 Бюл. 31.
14. Янов В. Н. Термическая обработка аутодермальных имплантов // Вестник хирургии. 1975. №9. С. 90-91.
15. Гуменюк С. Е., Григорьев А. Г., Губиш А.В., Батчаева Р.А., Сторожук П.Г. Фармакологическая коррекция формирования соединительной ткани при аллопластике в эксперименте // Кубанский научный медицинский вестник. 2015. №5. С.47-50. DOI: 10.25207/1608-6228-2017-2-61-65.