

Местная фаготерапия при хирургическом лечении ожоговых ран снижает риск колонизации кожи околораневой области патогенами группы *ESKAPE*

В.В. Бесчастнов, А.А. Тулупов , М.Г. Рябков, И.Е. Погодин, О.В. Ковалишена, И.Ю. Широкова, Е.В. Дударева, Н.А. Белянина, К.В. Андрюхин, Э.Ф. Бадиков

Университетская клиника

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» МЗ РФ,

Российская Федерация, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1

✉ Контактная информация: Тулупов Александр Андреевич, младший научный сотрудник Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ. Email: tulupov.a.a@yandex.ru

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние местной фаготерапии в монорежиме и комбинации с системной антибиотикотерапией на динамику микрофлоры, колонизирующей кожу околораневой области, при хирургическом лечении инфицированных ожоговых ран.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Научная гипотеза: применение местной фаготерапии в монорежиме при лечении инфекции ожоговых ран снижает риск колонизации кожи околораневой области бактериями группы *ESKAPE*. В экспериментальном исследовании проанализированы результаты микробиологических исследований смывов с поверхности кожи 40 животных, имеющих инфицированные ожоговые раны, на фоне проведения фаготерапии в монорежиме и комбинации с системной антибиотикотерапией.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе животных, получающих фаготерапию в монорежиме, доля бактерий группы *ESKAPE*, колонизирующих кожу околораневой области, на момент завершения курса противомикробной терапии составила 9%, тогда как в группе, получающей фаготерапию в комбинации с системной антибиотикотерапией – 43% ($p=0,011$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение местной фаготерапии в монорежиме при хирургическом лечении инфицированных ожоговых ран снижает опасность колонизации кожи околораневой области патогенами группы *ESKAPE*. Вместе с тем системная антибиотикотерапия вызывает нарушение баланса резидентной и транзитной микрофлоры кожи в околораневой области и увеличение частоты ее колонизации патогенами группы *ESKAPE*.

Ключевые слова:

местная фаготерапия, антибиотикотерапия, инфицированные ожоговые раны, кожа околораневой области, микробиота кожи, *ESKAPE* патогены

Ссылка для цитирования

Бесчастнов В.В., Тулупов А.А., Рябков М.Г., Погодин И.Е., Ковалишена О.В., Широкова И.Ю. и др. Местная фаготерапия при хирургическом лечении ожоговых ран снижает риск колонизации кожи околораневой области патогенами группы *ESKAPE*. Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь. 2024;13(1):29–36. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2024-13-1-29-36>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Благодарность, финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания Минздрава России № 056-00015-21-00 «Изучение механизмов комплексной устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам и физическим антимикробным факторам и разработка способов ее преодоления» (2021–2023)

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных проблем хирургического лечения пациентов с термической травмой является инфекция ожоговых ран. Перед выполнением свободной кожной пластики необходимо контролировать микробный пейзаж реципиентной раны. Это связано с тем, что основная причина бактериального лизиса расщепленных аутодермотрансплантатов в раннем послеоперационном периоде связана с колонизацией реципиентного ложа антибиотикорезистентной микрофлорой [1]. По данным многоцентровых исследований распространенности и этиологии нозокоми-

альных инфекций в многопрофильных стационарах Российской Федерации [2, 3], основными возбудителями инфекции ожоговых ран являются антибиотикорезистентные патогены группы *ESKAPE*: *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *Enterobacter spp.* Патогены группы *ESKAPE* являются наиболее проблемными в связи с множественной лекарственной устойчивостью к противомикробным препаратам [4]. Для улучшения результатов хирургического лечения ожоговых ран существует острая потребность в разработке новых подходов и стратегий

борьбы с патогенами, обладающими устойчивостью к антибактериальным препаратам [5]. Перспективным подходом является внедрение в практическую деятельность фаготерапии, которая оказывает точечное воздействие на патогенную флору и не вызывает дисбактериоза резидентной микрофлоры [6–8].

В современной литературе представлены результаты множества исследований, описывающих динамику патогенной раневой микрофлоры на фоне антибиотикотерапии [9–10]. Однако исследований микрофлоры кожи околораневой области при хирургическом лечении ожоговых ран до настоящего времени не проводилось.

Цель исследования: изучить влияние местной фаготерапии в монорежиме и в комбинации с системной антибиотикотерапией на динамику микрофлоры, колонизирующей кожу околораневой области, при хирургическом лечении инфицированных ожоговых ран.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, протокол № 1 от 16.03.2022 г., выполнено в соответствии с Всемирной декларацией прав животных и Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях.

Исследование выполнено на белых беспородных крысах линии Wistar массой от 440 до 490 г (самцы, $n=40$) на базе вивария экспериментально-биологической клиники ЦНИЛ ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России. Научная гипотеза: применение местной фаготерапии в монорежиме при лечении инфицированных ожоговых ран снижает риск колонизации кожи околораневой области животных бактериями группы *ESKAPE*. Объект исследования: животные с инфицированными ожоговыми ранами. Предмет исследования: микробиота кожи околораневой области.

НАРКОТИЗАЦИЯ ЖИВОТНЫХ

Каждый этап экспериментального исследования выполнен после предварительной наркотизации животных путем внутримышечного введения растворов 3,5% тилетамина гидрохлорида и 2% ксилазина гидрохлорида из расчета на массу животного, с учетом предполагаемой продолжительности и травматичности предстоящей манипуляции.

АНАЛИЗ МИКРОФЛОРЫ КОЖИ

Перед моделированием ожоговой раны с предварительно выбритой поверхности кожи спины стерильным ватным тампоном, смоченным 0,9% физиологическим раствором, взяты смывы для определения микрофлоры, колонизирующей кожу животных. С целью динамической оценки микрофлоры, колонизирующей кожу, повторные смывы брали на 3-и сутки от момента моделирования контактного ожога, а также на 4-е и 7-е сутки противомикробной терапии. Взятие смывов с поверхности кожи околораневой области производили по всему периметру ожогового струпа, на расстоянии 1 см от его края, избегая соприкосновения с обожженными тканями.

Для оценки видового разнообразия микробиоты кожи использовали показатель видового разнообразия С.И. Сытника [11], рассчитываемого по формуле:

$$d=s/n,$$

где d — видовое разнообразие, s — количество видов, n — общая плотность бактерий.

МОДЕЛИРОВАНИЕ КОНТАКТНОГО ОЖОГА

У всех животных в предварительно выбранной межлопаточной области смоделирован контактный ожог III степени за счет десятисекундного прижатия к коже металлической пластины размером 7×4×1 см, нагретой до 150°C. Площадь ожога соответствовала размерам металлической пластины и составляла 20% поверхности тела животного. Данный алгоритм создания ожоговой раны соответствует методике, описанной в модели ожога А. Orenstein [12].

ФОРМИРОВАНИЕ ОТКРЫТОЙ ОЖОГОВОЙ РАНЫ

На 3-и сутки эксперимента на поверхности контактного ожога сформировался плотный, сухой струп светло-коричневого цвета, спаянный с подлежащими тканями. На поверхности сформировавшегося струпа маркером рисовали круг диаметром 22 мм. В качестве трафарета использовали внутреннюю окружность кольца из медицинской стали. По намеченному кругу хирургическими ножницами выполняли фасциальную некрэктомию, тем самым формируя открытую ожоговую рану.

ПОДГОТОВКА РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ – НОСИТЕЛЯ БАКТЕРИОФАГОВ «ПОЛИПРАН»

Для создания в области раневой поверхности депо бактериофагов использовали полимерную пленку «Полипран» производства ООО «Новые перевязочные материалы». При нанесении на пленку «Полипран» жидкости из расчета 0,1 мл/см² пленка ее впитывает, набухает и в течение 30–60 секунд преобразуется в гидрогелевую пластину, используемую для укрытия раневой поверхности. Поскольку в качестве жидкости использовался раствор бактериофага, то полученную гидрогелевую пластину использовали в качестве носителя бактериофагов. Исследования литической активности бактериофагов в составе гидрогеля на основе поливинилового спирта были проведены нами ранее [13], при этом было показано, что литическая активность бактериофагов в гидрогеле на основе раневого покрытия «Полипран» сохраняется до 7 суток.

КОЛОНИЗАЦИЯ РАНЕВОЙ ПОВЕРХНОСТИ

Для контаминации сформированной ожоговой раны использовали изученный изолят *P. aeruginosa* из рабочей коллекции бактериологической лаборатории Университетской клиники «ПИМУ», выделенный от пациента с ожоговыми ранами. На основании клинического штамма готовилась бактериальная суспензия в концентрации 1×10⁸ КОЕ/мл. Дополнительно в лабораторных условиях подтверждена чувствительность экспериментальной культуры *P. aeruginosa* к синегнойному бактериофагу производства НПО АО «Микроген» (ИмБио) и антибактериальному препарату «Тиепенем».

Колонизация раневой поверхности выполнена путем бактериальной контаминации за счет наложения на рану на 3 суток гидрогелевой пластины «Полипран», насыщенной бактериальной суспензией.

ЗАБОР РАНЕВОГО ОТДЕЛЯЕМОГО ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

На 3-и сутки с момента контаминации раневой поверхности, стерильным ватным тампоном, круговыми вращательными движениями от центра к периферии поверхности раны произведен забор раневого отделяемого.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СМЫВОВ С ПОВЕРХНОСТИ КОЖИ И РАНЕВОГО ОТДЕЛЯЕМОГО

Исследование проводили в условиях бактериологической лаборатории в соответствии со стандартной операционной процедурой «Микробиологическое исследование, отделяемое ран на аэробную и факультативно-анаэробную микрофлору» от 11.01.2021 и СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» от 28.01.2021.

Полученный биологический материал наносили на стерильное предметное стекло и окрашивали по Грамму. Мазок просматривали под микроскопом и при обнаружении микроорганизмов отмечали их морфологию и степень обсемененности. Посев материала производили на поверхность 5% кровяного агар в модификации рассева по Дригальскому и делали посев в сахарный бульон путем погружения в него тампона с биологическим материалом. Засеянные питательные среды термостатировали при температуре 37°C в течение 24 часов. После этого просматривали чашки с посевами и отмечали наличие или отсутствие роста на 5% кровяном агаре. При отсутствии роста на плотной питательной среде делали высеив с сахарного бульона на 5% кровяной агар и термостатировали 24 часа. При обнаружении бактериального роста производили отсев колоний с целью их дальнейшей видовой идентификации на масс-спектрометре *MALDI biotyper*.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИВОТНЫХ ПО ГРУППАМ

После микробиологического подтверждения колонизации раневого ложа *P. aeruginosa* животные случайным образом были разделены на две группы. В первой группе ($n=20$) для борьбы с раневой инфекцией применяли местную фаготерапию в монорежиме (группа «БФ»). Во второй группе ($n=20$) применяли местную фаготерапию в комбинации с системной антибиотикотерапией (группа «БФ+АБ»).

МЕСТНАЯ ФАГОТЕРАПИЯ

Для местной противомикробной терапии применяли раствор бактериофага синегнойной палочки производства НПО АО «Микроген» (ИмБио). Для поддержания литической концентрации фага в области инфицированной раны бактериофаг иммобилизовывали в гидрогелевом раневом покрытии «Полипран», которое укладывали на раневую поверхность. Продолжительность курса местной фаготерапии составляла 7 дней. На 4-е сутки местной фаготерапии выполняли перевязку.

СИСТЕМНАЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

В качестве системной антибактериальной терапии использовали раствор «Тиепенем» из расчета 10 мг/кг внутривенно, 2 раза в день, в течение 7 дней. Инъекцию выполняли, отступив 1 см вниз от пупка, под углом 30–40° к брюшной стенке.

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием компьютерной программы *STATISTICA 10.0* (StatSoft, Inc., США). Для оценки статистической значимости различий при сравнении двух связанных групп по количественному признаку использовали критерий Вилкоксона, при сравнении качественных эффектов применяли точный метод Фишера. Для сопоставления двух выборок по количественным признакам, которые не являлись нормально распределенными, использовали критерий Вилкоксона для парных сравнений. Критическое значение уровня значимости рассматривалось при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе экспериментального исследования был проведен анализ 200 результатов микробиологических исследований биоматериала, полученного от 40 животных с инфицированными ранами. В итоге было высеяно и идентифицировано 288 микробных колоний, 32 из которых — патогены группы *ESKAPE*.

На первом этапе исследования оценивали количественные показатели видового разнообразия микробиоты кожи околораневой области животных до нанесения ожога и на 3-и сутки после нанесения ожога. При этом медиана количества видов микроорганизмов до моделирования ожога на коже каждого животного (всего 40 животных) составила 3 [2; 3], а на 3-и сутки после нанесения ожоговой травмы статистически значимо сократилась до 1 [1; 1] ($p=0,01$).

В результате микробиологического исследования посевов биологического материала, полученного с поверхности кожи 40 животных, взятых перед моделированием контактного ожога, был зафиксирован рост представителей микробиоценоза в общей совокупности 128 микробных колоний (рис. 1). Как видно из рисунка, спектр микроорганизмов включал 12 видов. Основная доля представлена бактериями трех родов: *Acinetobacter spp.* — 36%, *Staphylococcus spp.* — 30% и *Enterococcus spp.* — 19%.

На 3-и сутки от момента нанесения контактного ожога в результате микробиологического исследования посевов биологического материала с поверхности кожи 40 животных выявлен рост 48 микробных колоний (рис. 2), что на 63% меньше изначального видового разнообразия микрофлоры, колонизирующей кожу.

При изучении результатов микробиологического исследования раневого отделяемого, на 3-и сутки с

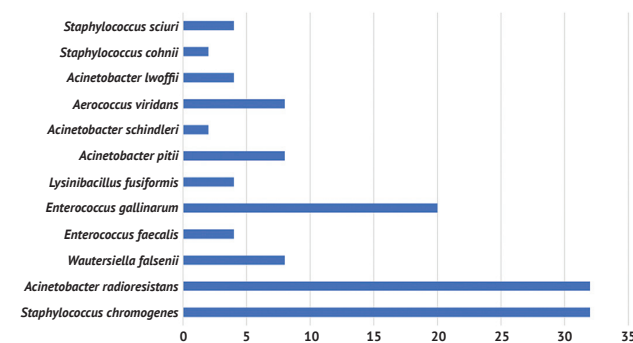


Рис. 1. Микрофлора, колонизирующая кожу исследуемых животных до нанесения контактного ожога

Fig. 1. Microflora colonizing the skin of the studied animals before the application of a contact burn

момента контаминации, у всех животных выявлен рост *P. aeruginosa* в концентрации 10^3 – 10^4 КОЕ/мл, что свидетельствует об успешной колонизации ожоговой раны.

На 4-е сутки противомикробной терапии (рис. 3), в группе «БФ» на питательных средах зафиксирован рост 30 микробных колоний, 28 (94%) из которых являлись резидентными, а 2 (6%) относились к бактериям группы *ESKAPE*. В группе «БФ+АБ» из 32 выявленных микробных колоний 16 (50%) относились к бактериям группы *ESKAPE* ($p=0,01$, статистически значимо).

При микробиологическом исследовании смывов с поверхности кожи животных, взятых на 7-е сутки противомикробной терапии (рис. 4), в группе «БФ» был выявлен рост *S. chromogenes* — 20 микробных колоний и 2 (10%) — колонии *S. aureus*, представителя бактерий группы *ESKAPE*. В группе «БФ+АБ» из 28 выявленных микробных колоний 12 (43%) относились к *ESKAPE* патогенам ($p=0,011$, статистически значимо).

В результате определения показателя видового разнообразия кожи околораневой области на 7-е сутки противомикробной терапии выявлено статистически значимое преобладание патогенов группы *ESKAPE* у животных группы «БФ+АБ» ($p=0,02$). Видовое разнообразие рассматриваемого биотопа у животных группы «БФ+АБ» составило 2,3, а группы «БФ» — 1,2. Следовательно, контаминация кожи околораневой области *ESKAPE*-патогенами статистически значимо чаще происходила у животных группы «БФ+АБ» в связи с нарушением баланса микробиоценоза данного биотопа.

ОБСУЖДЕНИЕ

Кожа является органом, отделяющим внутреннее пространство организма от внешней среды, и ее поверхность плотно колонизирована резидентными и транзиторными бактериями, часть которых является условно-патогенными. В совокупности микроорганизмы формируют устойчивые сообщества и составляют своеобразную автономную экосистему, находящуюся в состоянии динамического равновесия с макроорганизмом. Такую совокупность микроорганизмов каждого макроорганизма называют микробиомом [14].

Поверхность ожоговых ран является входными воротами инфекции и имеет все необходимые условия для благоприятного роста патогенной микрофлоры [15]. Источники поступления патогенной микрофлоры на раневую поверхность разнообразны, в том числе к ним относится кожа околораневой области [16]. Согласно исследованиям *P.M. Mertz, G. Ovington* (1993) и *M. Tomic-Canic et al.* (2020), преобладание в околораневой области патогенной микрофлоры над резидентной снижает регенераторный потенциал и увеличивает сроки заживления раны [17, 18]. Интерес к составу и динамике микробиоты кожи околораневой области объясняется и тем, что резидентная микрофлора обеспечивает иммунобиологическую резистентность к условно-патогенным представителям транзиторной микрофлоры, контаминирующим кожу, предотвращая их рост и инвазию [19]. Следствием нарушения баланса резидентной и транзиторной микрофлоры является ослабление физиологических процессов иммунологической резистентности, что быстро приводит к активизации факторов патогенности транзиторной микрофлоры [20]. В данном контексте проведенное исследование представляет клинический интерес, пос-

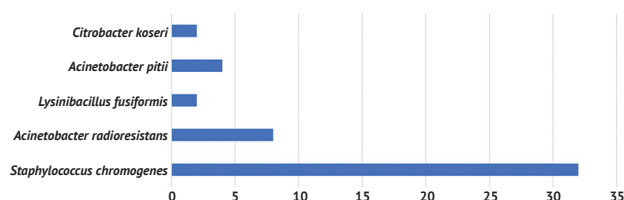


Рис. 2. Микрофлора, колонизирующая кожу околораневой области исследуемых животных после нанесения контактного ожога

Fig. 2. Microflora colonizing the skin of the peri-wound area of the studied animals after a contact burn

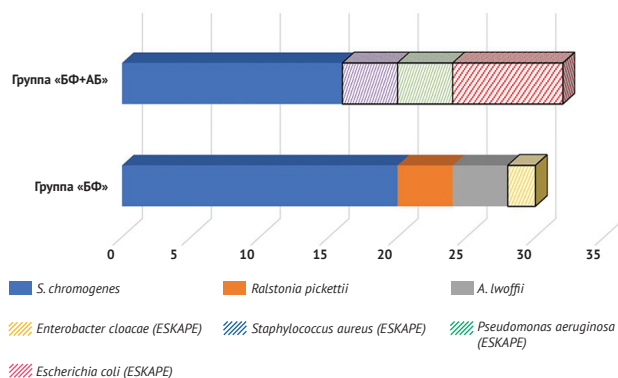


Рис. 3. Микрофлора, колонизирующая кожу околораневой области исследуемых животных на 4-е сутки противомикробной терапии

Fig. 3. Microflora colonizing the skin of the peri-wound area of the studied animals on the 4th day of antimicrobial therapy

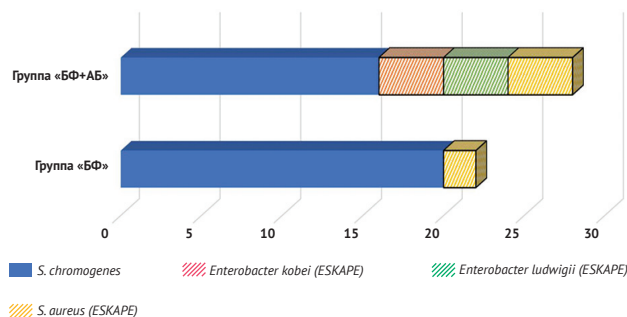


Рис. 4. Микрофлора, колонизирующая кожу околораневой области исследуемых животных на 7-е сутки противомикробной терапии

Fig. 4. Microflora colonizing the skin of the peri-wound area of the studied animals on the 7th day of antimicrobial therapy

кольку демонстрирует динамику изменений микробиоценоза кожи околораневой области как самостоятельного биотопа, важность сохранения микробного баланса в котором нельзя недооценивать.

Необходимо акцентировать внимание на том, что в данном исследовании не проводилась сравнительная оценка эффективности системной антибиотикотерапии и местной фаготерапии при лечении инфекции ожоговых ран. По данным нашего исследования, способ борьбы с вирулентным микроорганизмом, колонизирующим ожоговую рану, оказывает непосредственное влияние на микробиоту кожи околораневой области. Сокращение видового состава микробиоты кожи околораневой области у животных обеих групп

еще до начала антимикробной терапии на 3-и сутки после контактного ожога наиболее вероятно является следствием активации иммунного ответа. Иммунный ответ макроорганизма в ситуации термической травмы направлен на предотвращение инвазии патогенной микрофлоры, что согласуется с мнением J.K. Plichta et al. (2017) [21]. По нашим данным, до применения системной антибиотикотерапии контактный ожог может быть причиной сокращения видового состава микрофлоры кожи околораневой области, но сам по себе не приводит к колонизации кожи антибиотикорезистентными патогенами. Однако после начала антибиотикотерапии на коже околораневой области появляются патогены группы *ESKAPE*, что статистически значимо реже наблюдается при монотерапии бактериофагами. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что ведущей причиной смещения баланса между резидентной и транзитной микрофлорой в сторону патогенов группы *ESKAPE* является антибиотикотерапия препаратами широкого спектра действия. В то же время в группе животных, при лечении которых применялась фаготерапия в монорежиме, биологическое равновесие между комменсалами и патогенами в околораневой области сохранялось. Мы полагаем, что полученные данные в будущем позволят сформировать целостную картину изменений микробиома на фоне противомикробной терапии и оценить влияние этих изменений на течение раневого процесса.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Зиновьев Е.В., Солошенко В.В., Юрова Ю.В., Костяков Д.В., Вагнер Д.О., Крылов П.К. Лизис/отторжение расщепленных аутодермотрансплантатов – пути решения. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2020;3(71):194–198. <https://doi.org/10.17816/btrmma50559>
2. Яковлев С.В., Суворова М.П., Белобородова В.Б., Басин Е.Е., Елисеева Е.В., Ковеленов С.В., и др. Распространенность и клиническое значение нозокомиальных инфекций в лечебных учреждениях России: исследование ЭРГИНИ. *Антибиотики и химиотерапия*. 2016;61(5–6):32–42.
3. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микитина А.В., Дехнич А.В., и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «Марафон» 2013–2014. *Клиническая микробиология и антимикробная терапия*. 2017;19(1):49–56.
4. Gaynes R, Edwards JR. National Nosocomial Infections Surveillance System. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis*. 2005;41(6):848–854. PMID: 16107985 <https://doi.org/10.1086/432803>
5. de Kraker ME, Stewardson AJ, Harbarth S. Will 10 Million People Die a Year due to Antimicrobial Resistance by 2050? *PLoS Med*. 2016;13(11):e1002184. PMID: 27898664 <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002184>
6. Паршин Д.С., Топчиев М.А., Пятаков С.Н., Бадма-Горяев О.В., Куприянов А.В., Алибеков Р.С. Результаты фаготерапии инфекционных осложнений в неотложной абдоминальной хирургии. *Таврический медико-биологический вестник*. 2022;25(2):72–80. <https://doi.org/10.37279/2070-8092-2022-25-2-72-80>
7. Loc-Carrillo C, Abedon ST. Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage*. 2011;1(2):111–114. PMID: 22334867 <https://doi.org/10.4161/bact.1.2.14590>
8. Леонтьев А.Е., Павленко И.В., Ковалишена О.В., Саперкин Н.В., Тулупов А.А., Бесчастнов В.В. Применение фаготерапии в лечении ожоговых больных (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2020;12(3):95–104. PMID: 34795985 <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.3.12>
9. Williams M. Wound infections: an overview. *Br J Community Nurs*. 2021;26(6):22–25. PMID: 34106009 <https://doi.org/10.12968/bjcn.2021.26.Sup6.S22>
10. Cancio LC. Topical Antimicrobial Agents for Burn Wound Care: History and Current Status. *Surg Infect (Larchmt)*. 2021;22(1):3–11. PMID: 33124942 <https://doi.org/10.1089/sur.2020.368>
11. Сытник С.И. Экологический подход к оценке кожной микрофлоры. *Антибиотики и химиотерапия*. 1989;34(6):466–472.
12. Orenstein A, Klein D, Koplovic J, Winkler E, Malik Z, Keller N, et al. The use of porphyrins for eradication of *Staphylococcus aureus* in burn wound infections. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 1997;19:307–314.
13. Бесчастнов В.В., Рябков М.Г., Леонтьев А.Е., Тулупов А.А., Юданова Т.Н., Широкова И.Ю. и др. Исследование in vitro жизнеспособности бактериофагов в составе комплексных гидрогелевых раневых покрытий. *Современные технологии в медицине*. 2021;13(2):32–39. PMID: 34513074 <https://doi.org/10.17691/stm2021.13.2.03>
14. El-Sayed A, Aleya L, Kamel M. Microbiota's role in health and diseases. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021;28(28):36967–36983. PMID: 34043164 <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14593-z>
15. Eguia E, Cobb AN, Baker MS, Joyce C, Gilbert E, Gonzalez R, et al. Risk factors for infection and evaluation of Sepsis-3 in patients with trauma. *Am J Surg*. 2019;218(5):851–857. PMID: 30885453 <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2019.03.005>
16. Phillips LG, Heggers JP, Robson MC, Boertman JA, Meltzer T, Smith DJ Jr. The effect of endogenous skin bacteria on burn wound infection. *Ann Plast Surg*. 1989;23(1):35–38. PMID: 2764460 <https://doi.org/10.1097/0000637-198907000-00007>
17. Mertz PM, Ovington LG. Wound healing microbiology. *Dermatol Clin*. 1993;11(4):739–747.
18. Tomic-Canic M, Burgess JL, O'Neill KE, Strbo N, Pastar I. Skin Microbiota and its Interplay with Wound Healing. *Am J Clin Dermatol*. 2020;21(1):36–43. PMID: 32914215 <https://doi.org/10.1007/s40257-020-00536-w>
19. Stacy A, Andrade-Oliveira V, McCulloch JA, Hild B, Oh JH, Perez-Chaparro PJ, et al. Infection trains the host for microbiota-enhanced resistance to pathogens. *Cell*. 2021;184(3):615–627. PMID: 33453153 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.12.011>
20. Balato A, Cacciapuoti S, Di Caprio R, Marasca C, Masarà A, Raimondo A, et al. Human Microbiome: Composition and Role in Inflammatory Skin Diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2019;67(1):1–18. PMID: 30302512 <https://doi.org/10.1007/s00005-018-0528-4>
21. Plichta JK, Gao X, Lin H, Dong Q, Toh E, Nelson DE, et al. Cutaneous Burn Injury Promotes Shifts in the Bacterial Microbiome in Autologous Donor Skin: Implications for Skin Grafting Outcomes. *Shock*. 2017;48(4):441–448. PMID: 28368977 <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000874>

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного экспериментального исследования получены данные, свидетельствующие о том, что применение местной фаготерапии в монорежиме при лечении инфицированных ожоговых ран снижает опасность колонизации кожи околораневой области патогенами группы *ESKAPE*. Дальнейшее изучение закономерностей динамики микробиоты кожи на фоне антибиотико- и фаготерапии является перспективным направлением в борьбе с антибиотикорезистентной микрофлорой.

ВЫВОДЫ

1. Термическая травма и системная антибиотикотерапия инфекции ожоговых ран сопровождается сокращением видового разнообразия микробиоты кожи околораневой области.

2. Сокращение видового разнообразия резидентных представителей комменсальной микробиоты кожи околораневой области приводит к ее колонизации патогенами группы *ESKAPE*.

3. Местная фаготерапия в монорежиме позволяет сохранить видовое разнообразие кожи околораневой области и уменьшает ее колонизацию патогенами группы *ESKAPE* ($p=0,011$). Соотношение между патогенами и комменсалами на коже околораневой области при монотерапии бактериофагами сохраняется на уровне 1,2, а в комбинации с системной антибиотикотерапией увеличивается до 2,3 ($p=0,02$).

REFERENCES

- Zinoviev EV, Soloshenko VV, Yurova YV, Kostyakov DV, Vagner DO, Krylov PK. Lysis/rejection of split autoderm grafts – solutions. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2020;22(3):194–198. <https://doi.org/10.17816/brmma50559>
- Yakovlev SV, Suvorova MP, Beloborodov VB, Basin EE, Eliseev EV, Kovelonov SV, et al. Multicentre Study of the Prevalence and Clinical Value of Hospital-Acquired Infections in Emergency Hospitals of Russia: ERGINI Study. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2016;61(5–6):32–42. (In Russ.)
- Sukhorukova MV, Edelstein MV, Skleenova EYu, Ivanchik NV, Mikotina AV, Dekhnich AV, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriaceae isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study “MARATHON” 2013–2014. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2017;19(1):49–56 (In Russ.)
- Gaynes R, Edwards JR. National Nosocomial Infections Surveillance System. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis*. 2005;41(6):848–854. PMID: 16107985 <https://doi.org/10.1086/432803>
- de Kraker ME, Stewardson AJ, Harbarth S. Will 10 Million People Die a Year due to Antimicrobial Resistance by 2050? *PLoS Med*. 2016;13(11):e1002184. PMID: 27898664 <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002184>
- Parshin DS, Topchiev MA, Pyatakov SN, Badma-Goryaev OV, Kupriyanov AV, Alibekov RS. Results of Phagothrapy of Infectious Complications in Emergency Abdominal Surgery. *Tavricheskiy Mediko-Biologicheskii Vestnik*. 2022;25(2):72–80. (In Russ.) <https://doi.org/10.37279/2070-8092-2022-25-2-72-80>
- Loc-Carrillo C, Abedon ST. Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage*. 2011;1(2):111–114. PMID: 22354867 <https://doi.org/10.4161/bact.1.2.14590>
- Leontyev AE, Pavlenko IV, Kovalishena OV, Saperkin NV, Tulupov AA, Beschastnov VV. Application of Phagothrapy in the Treatment of Burn Patients (Review). *Modern Technologies in Medicine*. 2020;12(3):95. (In Russ.) <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.3.12>
- Williams M. Wound infections: an overview. *Br J Community Nurs*. 2021;26(6):22–25. PMID: 34106009 <https://doi.org/10.12968/bjcn.2021.26.Sup6.S22>
- Cancio LC. Topical Antimicrobial Agents for Burn Wound Care: History and Current Status. *Surg Infect (Larchmt)*. 2021;22(1):3–11. PMID: 33124942 <https://doi.org/10.1089/sur.2020.368>
- Sytnik SI. Ekologicheskiy podkhod k otsenke kozhnoy mikroflory. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 1989;34(6):466–472. (In Russ.)
- Orenstein A, Klein D, Kopolovic J, Winkler E, Malik Z, Keller N, et al. The use of porphyrins for eradication of Staphylococcus aureus in burn wound infections. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 1997;19:307–314.
- Beschastnov VV, Ryabkov MG, Leontiev AE, Tulupov AA, Yudanov TN, Shirokova IYu, et al. Viability of Bacteriophages in the Complex Hydrogel Wound Dressings in vitro. *Modern Technologies in Medicine*. 2021;13(2):32–39. PMID: 34513074. (In Russ.) <https://doi.org/10.17691/stm2021.13.2.03>
- El-Sayed A, Aleya L, Kamel M. Microbiota's role in health and diseases. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021;28(28):36967–36983. PMID: 34043164 <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14593-z>
- Eguia E, Cobb AN, Baker MS, Joyce C, Gilbert E, Gonzalez R, et al. Risk factors for infection and evaluation of Sepsis-3 in patients with trauma. *Am J Surg*. 2019;218(5):851–857. PMID: 30885453 <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2019.03.005>
- Phillips LG, Heggors JP, Robson MC, Boertman JA, Meltzer T, Smith DJ Jr. The effect of endogenous skin bacteria on burn wound infection. *Ann Plast Surg*. 1989;23(1):35–38. PMID: 2764460 <https://doi.org/10.1097/0000637-198907000-00007>
- Mertz PM, Ovington LG. Wound healing microbiology. *Dermatol Clin*. 1993;11(4):739–747.
- Tomic-Canic M, Burgess JL, O'Neill KE, Strbo N, Pastar I. Skin Microbiota and its Interplay with Wound Healing. *Am J Clin Dermatol*. 2020;21(1):36–43. PMID: 32914215 <https://doi.org/10.1007/s40257-020-00536-w>
- Stacy A, Andrade-Oliveira V, McCulloch JA, Hild B, Oh JH, Perez-Chaparro PJ, et al. Infection trains the host for microbiota-enhanced resistance to pathogens. *Cell*. 2021;184(3):615–627. PMID: 33453153 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.12.011>
- Balato A, Cacciapuoti S, Di Caprio R, Marasca C, Masarà A, Raimondo A, et al. Human Microbiome: Composition and Role in Inflammatory Skin Diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2019;67(1):1–18. PMID: 30302512 <https://doi.org/10.1007/s00005-018-0528-4>
- Plichta JK, Gao X, Lin H, Dong Q, Toh E, Nelson DE, et al. Cutaneous Burn Injury Promotes Shifts in the Bacterial Microbiome in Autologous Donor Skin: Implications for Skin Grafting Outcomes. *Shock*. 2017;48(4):441–448. PMID: 28368977 <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000874>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Бесчастнов Владимир Викторович	доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0002-9332-3858, vvb748@mail.ru; 18%: общее руководство, дизайн исследования, организация эксперимента, интерпретация результатов, редактирование статьи
Тулупов Александр Андреевич	младший научный сотрудник Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0001-6567-7803, tulupov.a.a@yandex.ru; 14%: проведение эксперимента, сбор данных, написание рабочего варианта рукописи
Рябков Максим Георгиевич	доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0002-9555-190X, maxim-ryabkov@yandex.ru 12%: анализ и интерпретация результатов, редактирование статьи
Погодин Игорь Евгеньевич	врач травматолог-ортопед, заведующий ожоговым отделением (взрослых) Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0002-7008-4962, pogigevg@yandex.ru; 11%: анализ и интерпретация результатов, редактирование статьи
Ковалишена Ольга Васильевна	доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0002-9595-547X, kovalishena@mail.ru; 10%: организация эксперимента, согласование материала, анализ результатов, редактирование статьи
Широкова Ирина Юрьевна	кандидат медицинских наук, заведующая бактериологической лабораторией НИИ профилактической медицины; доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0002-8387-6344, shirokova.i@yandex.ru; 9%: микробиологическое исследование, анализ результатов, редактирование статьи

Дударева Елена Владимировна	врач-бактериолог бактериологической лаборатории Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0002-7569-4866 , dudareva.lena2010@yandex.ru ; 8%: микробиологическое исследование в рамках дизайна статьи, анализ результатов
Белянина Наталья Александровна	младший научный сотрудник Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0002-8578-3600 , belyaninanatasha@mail.ru ; 7% сбор данных, редактирование статьи
Андрюхин Кирилл Валерьевич	студент 5 курса ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0002-6178-0202 , johnny.andr@mail.ru ; 6%: сбор данных, оформление списка литературы
Бадиков Эмиль Фирдависович	младший научный сотрудник Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ; https://orcid.org/0000-0001-9844-5638 , docroutruyesou-492@yopmail.com ; 5% сбор данных в рамках дизайна статьи, оформление списка литературы

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Local Phage Therapy During Surgical Treatment of Burn Wounds Reduces the Risk of Colonization of the Skin of the Periwound Area by Pathogens of the ESKAPE Group

V.V. Beschastnov, A.A. Tulupov ✉, **M.G. Ryabkov, I.E. Pogodin, O.V. Kovalishena, I.Yu. Shirokova, E.V. Dudareva, N.A. Belyanina, K.V. Andryuhin, E.F. Badikov**

University clinic
Privolzhsky Research Medical University
10/1, Minin and Pozharsky Sq., Nizhny Novgorod 603005, Russian Federation

✉ **Contacts:** Aleksandr A. Tulupov, Junior Researcher at the University Clinic, Privolzhsky Research Medical University. Email: tulupov.a.a@yandex.ru

AIM OF STUDY To study the effect of local phage therapy alone and in combination with systemic antibiotic therapy on the dynamics of microflora colonizing the skin of the periwound area during surgical treatment of infected burn wounds.

MATERIAL AND METHODS Scientific hypothesis: the use of local phage therapy in monotherapy in the treatment of burn wound infections reduces the risk of colonization of the skin of the periwound area by bacteria of the ESKAPE group. The experimental study analyzed the results of microbiological studies of washings from the skin surface of 40 animals with infected burn wounds, in the course of phage therapy in monotherapy and in combination with systemic antibiotic therapy.

RESULTS In the group of animals receiving phage therapy alone, the proportion of ESKAPE group bacteria colonizing the skin of the periwound area at the time of completion of the course of antimicrobial therapy was 9%, while in the group receiving phage therapy in combination with systemic antibiotic therapy it was 43% ($p=0.011$).

CONCLUSION The use of local phage therapy in single mode during the surgical treatment of infected burn wounds reduces the risk of colonization of the skin of the peri-wound area by pathogens of the ESKAPE group. At the same time, systemic antibiotic therapy causes an imbalance of resident and transient skin microbiota in the periwound area and an increase in the frequency of its colonization by pathogens of the ESKAPE group.

Keywords: local phage therapy, antibiotic therapy, infected burn wounds, skin of the periwound area, skin microbiota, ESKAPE pathogens

For citation Beschastnov VV, Tulupov AA, Ryabkov MG, Pogodin IE, Kovalishena OV, Shirokova IYu, et al. Local Phage Therapy During Surgical Treatment of Burn Wounds Reduces the Risk of Colonization of the Skin of the Periwound Area by Pathogens of the ESKAPE Group. *Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care*. 2024;13(1):29–36. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2024-13-1-29-36> (in Russ.)

Conflict of interest Authors declare lack of the conflicts of interests

Acknowledgments, sponsorship The study was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Health of Russia No. 056-00015-21-00 "Studying the mechanisms of complex resistance of microorganisms to antimicrobial drugs and physical antimicrobial factors and developing ways to overcome it" (2021–2023)

Affiliations

Vladimir V. Beschastnov	Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Leading Researcher at the University Clinic, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-9332-3858 , vvb748@mail.ru ; 18%, general management, study design, experimental design, interpretation of results, article editing
Aleksandr A. Tulupov	Junior Researcher at the University Clinic, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0001-6567-7803 , tulupov.a.a@yandex.ru ; 14%, conducting the experiment, collecting data, writing a working draft of the manuscript
Maxim G. Ryabkov	Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Leading Researcher at the University Clinic, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-9555-190X , maxim-ryabkov@yandex.ru ; 12%, analysis and interpretation of results, article editing
Igor E. Pogodin	Traumatologist-orthopedist, Head of the Burn Department (adults) of the University Clinic, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-7008-4962 , pogigevg@yandex.ru ; 11%, analysis and interpretation of results, article editing

Olga V. Kovalishena	Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-9595-547X , kovalishena@mail.ru ; 10%, organization of the experiment, coordination of the material, analysis of the results, editing the article
Irina Yu. Shirokova	Candidate of Medical Sciences, Head of the Bacteriological Laboratory of the Research Institute of Preventive Medicine; Associate Professor, Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-8387-6344 , shirokova.i@yandex.ru ; 9%, microbiological research, analysis of results, editing of the article
Elena V. Dudareva	Bacteriologist at the Bacteriological Laboratory of the University Clinic, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-7569-4866 , dudareva.lena2010@yandex.ru ; 8%, microbiological research within the article design, analysis results
Natalia A. Belyanina	Junior Researcher, University Clinics, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-8578-3600 , belyaninanatasha@mail.ru ; 7%, data collection, editing
Kirill V. Andryuhin	5th grade student, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-6178-0202 , johnny.andr@mail.ru ; 6%, data collection, design list literature
Emil F. Badikov	Junior Researcher, University Clinics, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0001-9844-5638 , docroutruyesou-492@yopmail.com ; 5%, data collection, design list literature

Received on 12.10.2022**Review completed on 24.03.2023****Accepted on 24.03.2023****Поступила в редакцию 12.10.2022****Рецензирование завершено 24.03.2023****Принята к печати 24.03.2023**