

# ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИМПЛАНТАЦИОННОГО СПОСОБА АНТИБИОТИКОПРОФИЛАКТИКИ В ГЕРНИОЛОГИИ

A.В. Кузнецов<sup>1</sup>, С.Н. Белогородцев<sup>2</sup>, Б.С. Добряков<sup>1</sup>,  
В.В. Шестаков<sup>1</sup>, Б.В. Алексеев<sup>1</sup>, А.В. Бородач<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»

Минздравсоцразвития России (г. Новосибирск)

<sup>2</sup>ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН (г. Новосибирск)

В экспериментах *in vitro* проведено изучение свойств разработанного лейкоцитарного имплантата с антибиотиком как способа антибиотикопрофилактики в раннем послеоперационном периоде в герниологии. Доказана способность лейкоцитов сорбировать антибиотик с сохранением его противомикробной активности. Оценена концентрация антибиотика, и проведено бактериологическое изучение антимикробных свойств имплантата.

**Ключевые слова:** герниология, полипропиленовый сетчатый протез, лейкоцитарный имплантат, антибиотикопрофилактика.

**Кузнецов Алексей Владимирович** — кандидат медицинских наук, докторант кафедры хирургических болезней педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, рабочий телефон: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Белогородцев Сергей Николаевич** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных биотехнологий ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, контактный телефон: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Добряков Борис Семенович** — доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургических болезней ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, рабочий телефон: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Шестаков Вячеслав Васильевич** — кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургических болезней ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, рабочий телефон: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Алексеев Борис Викторович** — кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургических болезней ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский

университет» Минздравсоцразвития России, рабочий телефон: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Бородач Андрей Вячеславович** — доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургических болезней ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, рабочий телефон: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

---

**Актуальность.** Применение в герниологии синтетических материалов обеспечило уменьшение количества рецидивов грыж [4], но обнажило новую проблему, характерную для хирургии имплантатов — увеличение количества случаев развития инфекции в области хирургического вмешательства (ИОХВ) [8]. Использование любых имплантатов, том числе и полипропилена, который считается наиболее изученным и безопасным [37], существенно повышает риск развития ИОХВ. Для возникновения раневой инфекции в этих условиях требуется меньшее количество микроорганизмов [5]. Преобладающее влияние в развитии раневых осложнений традиционно принадлежит золотистому стафилококку [3]. При использовании искусственных материалов в герниологии для антибиотикопрофилактики (АБП) рекомендуется однократное предоперационное внутривенное введение цефазолина [6]. У грыженосителей рубцовые ткани в брюшной стенке препятствуют полноценному кровоснабжению места операции и увеличивают время доставки средств борьбы с микрофлорой — лейкоцитов и антибиотика в рану. В этих условиях решающее значение приобретает скорость проникновения средств борьбы с инфекцией в зону хирургического вмешательства. Изолированное усиление регионарного кровотока в брюшной стенке проблематично, улучшение же общей перфузии тканей организма приведет к усилению уклонения антибиотика в здоровые ткани и более скорому его разрушению и выведению.

Нам представляется наиболее эффективным способом АБП при грыжесечениях местное введение АБ интраоперационно в зону хирургического воздействия. Сочетание активизированных лейкоцитов аутокрови с антибиотиком видится оптимальным. Для этой цели нами разработан клеточный лейкоцитарный инплантат, состоящий из лейкоцитов аутокрови пациента, инкубированных с разовой дозой цефазолина для интраоперационной обработки сетчатого протеза и раны при грыжесечениях. Для использования имплантата необходимо его всестороннее изучение.

**Цель.** Исследование способности лейкоцитов крови аккумулировать антибактериальный препарат при их совместной экстракорпоральной инкубации и изучение особенностей антибактериальной активности лейкоцитарного сгустка в эксперименте *in vitro*.

**Материал и методы исследования.** Осуществляли забор 20 мл крови у 20-ти здоровых доноров после получения их информированного согласия. Выделение лейкоцитов (мононуклеарных клеток) периферической крови осуществляли на градиенте плотности фиколла. Количество выделенных клеток составило от 15 до  $20 \times 10^6$ , преимущественно гранулоцитов. Клетки помещали на 18 часов в СО2-инкубатор в 10 мл полной среды на основе RPMI 1640 с добавлением 0,1 г цефазолина (цефазолин сандоз 1,0 г, пр-во Сандоз Гмбх, Биохемиштрассе 10, А-6250, Кундль, Австрия). После инкубации клетки снимались со дна культурального пластика, 2-кратно отмывались от среды и ресуспендировались в аутоплазме. Добавлением CaCl2 формировался плазматический сгусток. Дополнительно из каждого образца крови был приготовлен

препарат, состоящий из плазматического имплантата без клеток и с клетками, инкубированными в полной среде без антибиотика.

**Бактериологическое изучение.** Для эксперимента *in vitro*, в условиях бактериологической лаборатории проводили посев стандартного музейного штамма стафилококка (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) на агар в чашки Петри. После экспозиции 40 мин в агаре в лунки 0,4 см в диаметре помещали: 1) стандартный диск с цефазолином с заранее известной зоной задержки для данного микробы; 2) плазматический сгусток с лейкоцитами, инкубированными с цефазолином; 3) плазматический сгусток с клетками без антибиотика; 4) плазматический сгусток без клеток. Учет результата проводили через 24 часа инкубации при температуре 37 °C.

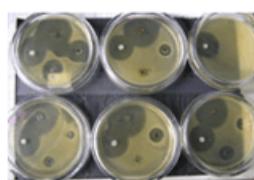
**Количественное определение цефазолина** в приготовленном имплантате проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Клеточную суспензию подвергали 4-кратной заморозке-разморозке для разрушения клеточных элементов. Белки осаждали ацетонитрилом (1 : 2) и центрифугированием. Супернатант исследовали на жидкостном хроматографе «Милихром А 02» (ЗАО «Эконова», Россия) согласно инструкции производителя.

**Результаты исследования.** В эксперименте *in vitro* во всех чашках наблюдали однотипную картину. Значение диаметра задержки роста микробы стандартным диском с цефазолином составило  $29,3 \pm 4$  мм. Норма диаметра для подтверждения чувствительности микрофлоры не менее 19 мм, 14 мм — оценивали как отсутствие чувствительности, 15–18 микрофлора умеренно чувствительна [2]. Средняя задержка роста вокруг плазматического сгустка без клеток и вокруг плазматического сгустка с клетками, культивированными без антибиотика, достоверно не различалась:  $11,7 \pm 9$  и  $13,9 \pm 7$  мм (рис. 1).



*Рис. 1.* Чашка Петри сразу после подсадки сгустков и диска (слева) и она же через 24 часа инкубации в термостате (справа). Обозначения: 1 — стандартный диск с цефазолином; 2 — плазматический сгусток с лейкоцитами, инкубированными с цефазолином; 3 — плазматический сгусток с клетками без антибиотика; 4 — плазматический сгусток без клеток

Зона задержки роста вокруг плазматического сгустка с лейкоцитами, инкубированными с цефазолином, была наибольшей во всех чашках (рис. 2) и составила  $43,0 \pm 6$  мм (рис. 3).

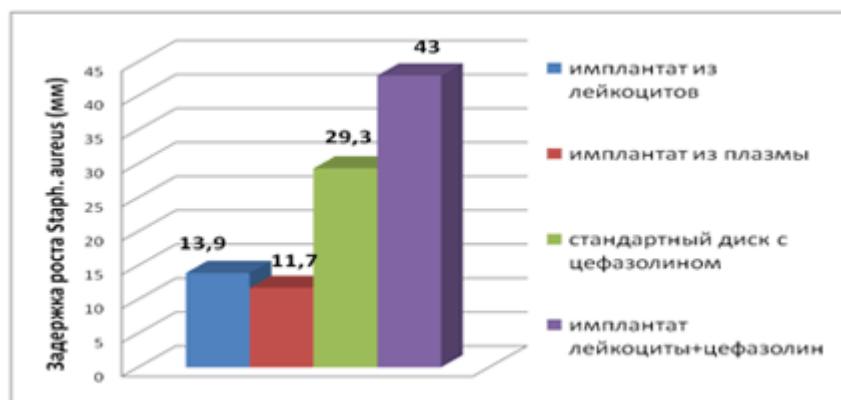


*Рис. 2.* Зона задержки роста вокруг плазматического сгустка с лейкоцитами, инкубированными с цефазолином



*Рис. 3.* Зона задержки роста вокруг плазматического сгустка с лейкоцитами, инкубированными с цефазолином составила  $43,0 \pm 6$  мм

Индивидуальные особенности крови от разных доноров не повлияли на получение одинакового результата во всех чашках. Итоговый средний результат приведен на рис. 4.



*Рис. 4.* Оценка зоны задержки роста *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 через 24 часа инкубации ( $n = 20$ )

Объем имплантата, планирующийся к применению в клинике, будет составлять 5 мл, что соответствует 0,44 г цефазолина (88 мг/мл), удерживаемого лейкоцитами в количестве  $75 \times 10^6$ /мл (табл. 1). Мы считаем эту дозу АБ достаточной для локального применения с целью АБП. Данные показатели сравнивали с минимальной подавляющей концентрацией, эффективностью 90 % (МПК90) цефазолина в тканях, в отношении *Staphylococcus aureus*, которая составляет 8 мг/л [1].

*Таблица 1*

**Основные характеристики лейкоцитарных имплантатов от разных доноров ( $M \pm m$ ) ( $n = 20$ )**

Показатель	Результат
Объем забранной крови донора, мл	20
Объем имплантата, мл	$5,0 \pm 0,3$
Количество лейкоцитов в имплантате, $\times 10^6$ /мл	$75 \pm 5$
Количество цефазолина в имплантате, мкг/мл	$875 \pm 5,3$
Количество цефазолина в одном лейкоците, мкг	$592 \pm 20 \times 10^{-7}$

**Обсуждение полученных результатов.** Условия эксперимента *in vitro* не способствовали сохранению жизнеспособности и функции клеток после помещения на бактериальную ростовую среду, что подтверждается одинаковой зоной задержек роста

вокруг плазматического сгустка с лейкоцитами без антибиотика и просто плазматического сгустка. Таким образом, бактерицидное действие плазматического сгустка может быть обусловлено только антибиотиком, сорбированным на поверхности и фагоцитированным во время культивирования лейкоцитами. Зона задержки роста вокруг этого препарата превышала таковую вокруг стандартного диска с АБ на 13,7 мм (67,4 %). Это позволяет говорить о том, что при инкубации с цефазолином лейкоциты активно сорбируют антибиотик в дозе, обладающей бактерицидным эффектом, и могут служить средством его направленного транспорта в очаг инфекции. Проведенные химические исследования изучаемого имплантата подтверждают достаточную концентрацию цефазолина для проведения интраоперационной АБП. Устойчивая гелеобразная структура имплантата, нанесенного на сетчатый протез во время грыжесечения, по нашему мнению, должна удерживаться в ячейках протеза и способствовать более длительному сохранению адекватной дозы АБ в ране в процессе биодеградации лейкоцитарного имплантата при клиническом применении. Использование имплантата из аутолейкоцитов пациента в клинике не должно приводить к нежелательным реакциям макроорганизма.

**Заключение.** Таким образом, использование лейкоцитсодержащего имплантата с цефазолином может служить средством АБП в герниологии, при операциях с использованием протезирующих сетчатых материалов. Метод нуждается в дальнейшем доклиническом и клиническом изучении.

### **Список литературы**

1. Белоусов Ю. Б. Клиническая фармакология и фармакотерапия : руководство для врачей / Ю. Б. Белоусов, В. С. Моисеев, В. К. Лепахин. — М. : Универсум Паблишинг, 1997. — 532 с.
2. Гольдберг Е. Д. Методы культуры ткани в гематологии : руководство для врачей / Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, В. П. Шахов. — Томск : Изд-во Том. ун-та, 1992. — 264 с.
3. Дехнич А. В. Эпидемиология резистентности штаммов *S. Aureus*, выделенных от пациентов ОРИТ российских стационаров : результаты многоцентрового исследования / А. В. Дехнич, А. А. Никулин, Е. Л. Рябкова [и др.] // Клин. микробиология и антимикроб. химеотерапия. — 2008. — Т. 10, № 4. — С. 333–344.
4. Егиев В. Н. Современное состояние и перспективы герниологии (лекция) / В. Н. Егиев // Герниология. — 2006. — № 2. — С. 5–10.
5. Иманкулова А. С. Особенности применения антимикробных препаратов при грыжесечениях : результаты ретроспективного исследования / А. С. Иманкулова // Здравоохранение Кыргызстана. — 2010. — № 4. — С. 22–25.
6. Плешков В. Г. Антибактериальная профилактика и качество ее проведения в абдоминальной хирургии / В. Г. Плешков, А. В. Голуб, А. П. Москалеви [и др.] // Инфекции в хирургии. — 2007. — № 1. — С. 21–28.
7. Тимошин А. Д. Результаты хирургического лечения послеоперационных вентральных грыж / А. Д. Тимошин, А. Л. Шестаков, Е. А. Галота // Герниология . — 2007. — № 2. — С. 33–36.
8. Kingsnorth A. N. Open mesh repair of incisional hernias with significant loss of domain / A. N. Kingsnorth, N. Savarajasingham, S. Wong [et al.] // Ann. R. Coll. Surg. Engl. — 2004. — Vol. 86, N 5. — P. 363–366.

# LABORATORY SUBSTANTIATION OF IMPLANTATION PRACTICE OF ANTIBIOTIC PROPHYLAXIS IN HERNIOLOGY

*A.V. Kuznetsov<sup>1</sup>, S.N. Belogorodtsev<sup>2</sup>, B.S. Dobryakov<sup>1</sup>,  
V.V. Shestakov<sup>1</sup>, B.V. Alekseev<sup>1</sup>, A.V. Borodach<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment» (Novosibirsk c.)*

<sup>2</sup>*SE SRI of Clinical Immunology of the SB RAMS (Novosibirsk c.)*

The property investigation of developed leukocytic implant with antibiotic as a method of antibiotic prophylaxis in the early postoperative period in herniologies is led in *in vitro* experiments. Antibiotic sorbing ability of leucocytes with preservation of its antimicrobial activity is proved. Concentration of antibiotic is estimated, and bacteriological investigation of implant antimicrobial properties is carried out.

**Keywords:** herniology, polypropilene mesh prosthesis, leukocytic implant, antibiotic prophylaxis.

---

## About authors:

**Kuznetsov Alexey Vladimirovich** — candidate of medical sciences, doctoral candidate of surgical illnesses chair of pediatric faculty at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», office number: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Belogorodtsev Sergey Nikolaevich** — candidate of medical sciences, senior research assistant of laboratory of cellular biotechnologies at SE SRI of Clinical Immunology of the SB RAMS, contact phone: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Dobryakov Boris Semenovich** — doctor of medical sciences, professor of surgical illnesses chair at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», office number: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Shestakov Vyacheslav Vasilevich** — candidate of medical sciences, assistant professor of surgical illnesses chair at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», office number: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Alekseev Boris Viktorovich** — candidate of medical sciences, assistant professor of surgical illnesses chair at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», office number: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

**Borodach Andrey Vyacheslavovich** — doctor of medical sciences, professor of surgical illnesses chair at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», office number: 8(383) 278-53-53, e-mail: [www.hirurg.kuznetsov@mail.ru](mailto:www.hirurg.kuznetsov@mail.ru)

## **List of the Literature:**

1. Belousov Y. B. Clinical pharmacology and pharmacotherapy: manual for doctors / Y. B. Belousov, V. S. Moiseev, V. K. Lepakhin. — M: Universum of Publishing, 1997. — 532 P.
2. Goldberg E. D. Methods of culture of tissue in hematology: guidance for doctors / E. D. Goldberg, A. M. Dygay, V. P. Shahov. — Tomsk: Publishing house of TSE, 1992. — 264 P.
3. Dekhnich A.V. Epidemiology of strains resistance *S. Aureus*, marked at patients of Critical Care Unit of the Russian hospitals: results of multicenter research / A. V. Dekhnich, A. A. Nikulin, E. L. Ryabkova [etc.] // Clinical microbiology and antimicrobe chemotherapy. — 2008. — V. 10, № 4. — P. 333–344.
4. Егиев В. Н. Современное состояние и перспективы герниологии (лекция) / В. Н. Егиев // Герниология. — 2006. — № 2. — С. 5–10. Egiev V. N. Current state and prospects of herniologies (lecture) / V. N. Egiev // the Herniology. — 2006. — № 2. — P. 5–10.
5. Imankulova A. S. Features of germicides application at herniotomies: results of retrospective research / A. S. Imankulova // Public health services of Kyrgyzstan. — 2010. — № 4. — P. 22–25.
6. Pleshkov. V. G. Antibacterial preventive care and quality of its carrying out in abdominal surgery / V. G. Pleshkov, A. V. Golub, A. P. Moskalevi [etc.] // Infections in surgery. — 2007. — № 1. — P. 21–28.
7. Timoshin A. D. Results of surgical treatment of postoperative ventral hernias / A. D. Timoshin, A. L. Shestakov, E. A. Galota // Herniology. — 2007. — № 2. — P. 33–36.
8. Kingsnorth A. N. Open mesh repair of incisional hernias with significant loss of domain / A. N. Kingsnorth, N. Savarajasingham, S. Wong [et al.] // Ann. R. Coll. Surg. Engl. — 2004. — Vol. 86, N 5. — P. 363–366.