

федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Сибирский федеральный биомедицинский исследовательский центр  
имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России

*На правах рукописи*

Таркова Александра Романовна

**Местное гемостатическое ванкомицин-содержащее средство  
для лечения и профилактики осложнений срединной стернотомии  
(экспериментальное исследование)**

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

по специальности

14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия

Научный руководитель:

д.м.н., проф. А.М. Чернявский

Новосибирск – 2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	<b>5</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	<b>6</b>
<b>ГЛАВА I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ПРОБЛЕМЕ ОСЛОЖНЕНИЙ СРЕДИННОЙ СТЕРНОТОМИИ В КАРДИОХИРУРГИИ (Литературный обзор)</b> .....	<b>16</b>
1.1 Современное состояние проблемы осложнений срединной стернотомии в кардиохирургии.....	16
1.1.1 Этиология возбудителей стернальной инфекции.....	17
1.1.2 Факторы риска возникновения стернальной инфекции.....	18
1.1.3 Профилактика возникновения стернальной инфекции.....	21
1.2 Методы остановки кровотечения.....	23
1.3 Разнообразие и краткая сравнительная характеристика местных гемостатических материалов.....	24
1.3.1 Гемостатические материалы на основе коллагена.....	24
1.3.2 Гемостатические материалы на основе желатина.....	25
1.3.3 Альбумин-содержащие гемостатические материалы.....	25
1.3.4 Полисахарид-содержащие гемостатические материалы.....	26
1.3.5 Неорганические гемостатические материалы.....	27
1.3.6 Гемостатические материалы на основе фибрина.....	27
1.4 Гемостатические материалы на основе окисленной целлюлозы.....	27
1.4.1 Механизм гемостатического действия препаратов на основе окисленной целлюлозы .....	29
1.4.2 Окисленная целлюлоза: свойства.....	30
1.4.3 Сравнение эффективности действия различных гемостатических материалов.....	32
1.4.4 Применение местных гемостатических средств на основе окисленной целлюлозы в хирургии.....	34
1.5 Резюме.....	38

<b>ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>41</b>
2.1 Дизайн исследования.....	41
2.2 Характеристика лабораторных животных.....	42
2.3 Описание используемых материалов.....	44
2.3.1 Характеристика комплекса ОЦ-В.....	44
2.3.2 Характеристика костного воска.....	45
2.3.3 Характеристика аптечного ванкомицина.....	45
2.3.4 Характеристика тест-штаммов патогенных микроорганизмов.....	46
2.4 Описание методов исследования.....	47
2.4.1 Анестезиологическое обеспечение.....	47
2.4.2 Метод оценки гемостатических свойств.....	48
2.4.3 Методы оценки локального воспаления.....	50
2.4.4 Метод оценки антибактериальной активности ОЦ-В и аптечного ванкомицина <i>in vitro</i> .....	51
2.4.5 Метод морфологического исследования срезов грудины.....	53
2.5 Методы статистической обработки полученных данных.....	56
<b>ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА.....</b>	<b>58</b>
3.1 Анализ объема интраоперационной кровопотери.....	58
3.2 Анализ локального воспаления.....	59
3.3 Анализ антибактериальной активности ОЦ-В и аптечного ванкомицина в условиях <i>in vitro</i> .....	61
3.3.1 Определение чувствительности <i>S. aureus</i> , <i>E. faecium</i> к исследуемым препаратам.....	61
3.3.2 Определение чувствительности MRSE и MRSA к исследуемым препаратам.....	63
3.3.3 Определение чувствительности полирезистентных штаммов <i>S. Pyogenes</i> и <i>S. pneumoniae</i> к исследуемым препаратам.....	66
3.4 Анализ регенерации костной ткани после остеосинтеза грудины.....	68
3.4.1 Оценка степени формирования костных балок.....	68

3.4.2 Оценка количества фибробластов.....	70
3.4.3 Оценка количества сосудов в межбалочном пространстве.....	71
3.5 Резюме.....	73
<b>ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....</b>	<b>74</b>
<b>ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>83</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>84</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>85</b>

## **СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

КОЕ – колониеобразующие единицы

ОЦ – окисленная нативная целлюлоза

ОРЦ – окисленная регенерированная целлюлоза

ОЦ-В – местное гемостатическое ванкомицин-содержащее средство на основе окисленной целлюлозы

ЭКГ – электрокардиограмма

АСТ – активированное время свертывания крови

CoNS – коагулазоотрицательный стафилококк

EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

MRSA – метициллин-резистентный золотистый стафилококк

MRSE – метициллин-резистентный эпидермальный стафилококк

SA – золотистый стафилококк

## **ВВЕДЕНИЕ**

Одной из важнейших проблем современной кардиохирургии являются кровотечения, возникающие в интра- и послеоперационном периоде, особенно

при использовании аппарата искусственного кровообращения и при повторных хирургических вмешательствах. По данным мировой литературы послеоперационное кровотечение достоверно увеличивает 30-дневную летальность [1] и значительно ухудшает течение послеоперационного периода у кардиохирургических пациентов [2]. Вынужденное переливание донорской крови увеличивает частоту возникновения острой почечной недостаточности, тромботических и тромбоэмболических осложнений, инсультов, инфарктов миокарда, синдрома острого посттрансфузионного повреждения легких [3], а возникающая зачастую посттрансфузионная иммуносупрессия увеличивает вероятность развития нозокомиальной инфекции и сепсиса [4]. Кроме того, переливание донорской крови является независимым фактором риска увеличения заболеваемости, смертности у кардиохирургических пациентов и послеоперационных затрат лечебного учреждения [5]. В большинстве мировых кардиохирургических центров для решения проблемы кровотечения используют костный воск, применение которого обусловлено эффективностью, дешевизной и отсутствием альтернативных гемостатических средств. Однако по данным морфологических исследований костный воск ингибирует регенерацию костной ткани, тем самым ухудшая заживление грудины, что способствует возникновению стерильной инфекции [6,7]. В связи с этим, в хирургической практике не менее широко используются локальные гемостатические средства, которые обладают адгезивными свойствами, вызывают вазоконстрикцию и могут быть использованы при диффузной кровоточивости. Среди большого разнообразия гемостатических материалов местного действия интерес вызывают препараты на основе окисленной целлюлозы (ОЦ), которые, помимо выраженной гемостатической активности и вышеописанных свойств, являются биосовместимыми и биodeградируемыми. Наиболее частая форма использования материалов на основе ОЦ – марля. Но, несмотря на доказанную гемостатическую эффективность, форма марли имеет некоторые недостатки: в частности, в литературе отмечают случаи неверной интерпретации в послеоперационном

периоде фрагментов гемостатической марли в качестве послеоперационных абсцессов и рецидивов опухолей по данным компьютерной томографии [8]. Подобные сообщения встречаются в урологии [9], общей хирургии [10], гинекологии [11]. В связи с этим, большой интерес представляет изучение альтернативных физических форм гемостатиков на основе ОЦ, в частности, формы порошка. При анализе мировой литературы установлено, что данных об использовании гемостатических порошков на основе ОЦ практически нет. Единичные исследования посвящены гемостатикам, применяемым, в основном, в эндоскопической хирургии [12].

По данным исследований преимущество формы порошка над марлей заключается в том, что при снижении индекса кристалличности и степени полимеризации ОЦ, возникающих за счёт интенсивного размола целлюлозы, происходит увеличение площади отрицательно заряженной поверхности ОЦ, инициирующей активацию внутреннего и внешнего пути свертывания крови [13], а усиленное набухание частиц порошка ОЦ при контакте с плазмой крови приводит к снижению кислотности и, следовательно, к усилению гемостатических свойств [14].

Наряду с проблемой остановки диффузных кровотечений, не менее остро стоит проблема своевременной профилактики внутрибольничных инфекций. На сегодняшний день, частота встречаемости стеральной инфекции в кардиохирургии достигает 6% [15]. По данным мировой литературы послеоперационная стеральная инфекция и нестабильность грудины являются ведущими причинами увеличения заболеваемости, летальности, социально-экономических издержек и дискомфорта пациентов после кардиохирургических вмешательств с выполнением срединной стернотомии [16]. При этом известно, что стеральная инфекция, по данным разных авторов, встречается в 0,5–4% и достоверно увеличивает послеоперационную летальность. [17,18,19]. Согласно данным мировой литературы, в подавляющем большинстве случаев возбудителями стеральной инфекции являются грамположительные бактерии, в частности: золотистый

стафилококк [18,20]. В соответствии с рекомендациями по применению антибактериальных препаратов, разработанными Медицинским центром Кливленда (США), грамположительная микрофлора в 100% случаев является чувствительной к антибиотику ванкомицину [21].

Разработка и внедрение новых лекарственных средств и форм является приоритетной задачей современной фундаментальной и практической медицины. В настоящее время около 25% мирового объема продаж составляют препараты с улучшенной системой доставки и пролонгированным механизмом действия. Они, как правило, характеризуются равномерным высвобождением активного вещества, отсутствием резких колебаний концентрации, длительностью действия, более высокой биодоступностью, а также сниженным риском развития побочных эффектов, что особенно важно в случае применения антибиотиков [22]. На сегодняшний день известно множество полимерных материалов, применяющихся в качестве носителей лекарственных веществ. Но наибольший интерес представляет окисленная целлюлоза – признанный во всем мире гемостатик, который, благодаря наличию карбоксильных групп, за счет образования ионных, ковалентных или межмолекулярных водородных связей, широко используется в качестве матрицы для иммобилизации различных лекарственных средств.

ОЦ в виде марли и порошка активно используется как матрица для иммобилизации различных антибиотиков. В мировой литературе имеются данные по исследованию гемостатического гентамицин-содержащего материала на основе ОЦ [23]. Но, в связи с высокой нефро- и ототоксичностью, в настоящее время для лечения и профилактики инфекции в области хирургического вмешательства применение гентамицина ограничено.

При анализе мировой литературы обнаружено единственное сообщение об одномоментном использовании окисленной целлюлозы и ванкомицина при стернотомии у лабораторных животных. При этом авторы статьи предлагают применять так называемую «сэндвич» методику, суть которой заключается в

нанесении порошка ванкомицина между двумя слоями гемостатической марли на основе окисленной целлюлозы и прикладывании данного комплекса к краям грудины [24].

Совместно с ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова» Сибирского отделения Российской академии наук был разработан метод окисления порошкообразной целлюлозы в инертном растворителе, наработана опытная партия образца ОЦ и получен комплекс – местное гемостатическое ванкомицин-содержащее средство на основе окисленной целлюлозы (ОЦ-В). Преимущество разработанного средства ОЦ-В заключается в иммобилизации антибиотика ванкомицина на молекуле ОЦ с помощью межмолекулярных водородных связей, что позволяет достигать пролонгированного, равномерного и локального выделения антибиотика в терапевтической концентрации.

Экспериментальное исследование эффективности комплекса ОЦ-В позволит оценить новое отечественное гемостатическое средство с антибактериальным действием для лечения и профилактики осложнений срединной стернотомии в кардиохирургии.

## **НАУЧНАЯ ГИПОТЕЗА**

Применение местного гемостатического ванкомицин-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы эффективно снижает объем кровопотери из губчатого вещества грудины после срединной стернотомии и профилаксирует развитие раневых инфекционно-воспалительных осложнений в послеоперационном периоде.

## **ЦЕЛЬ**

Дать экспериментальную оценку эффективности нового гемостатического ванкомицин-содержащего средства местного действия на основе окисленной целлюлозы

## **ЗАДАЧИ**

1. Провести сравнительную оценку гемостатической эффективности ОЦ-В и костного воска в условиях кровотечения из губчатого вещества грудины после срединной стернотомии в эксперименте
2. Оценить частоту встречаемости локального воспаления грудины при использовании ОЦ-В и костного воска после срединной стернотомии
3. Сравнить антибактериальную активность ОЦ-В и аптечного ванкомицина в условиях *in vitro*
4. Оценить регенерацию костной ткани после остеосинтеза грудины при использовании костного воска и ОЦ-В при выполнении срединной стернотомии в эксперименте

## **НАУЧНАЯ НОВИЗНА ИССЛЕДОВАНИЯ**

- Разработано новое местное гемостатическое ванкомицин-содержащее средство на основе окисленной целлюлозы, сходное по проявленной специфической фармакологической активности с аптечным ванкомицином
- Установлено, что в условиях полной гепаринизации (АСТ>500) применение материала ОЦ-В позволяет достоверно снизить объем кровопотери из губчатого вещества грудины лабораторного животного в сравнении с костным воском
- Использование материала ОЦ-В для остановки кровотечения из губчатого вещества грудины не вызывает локального воспаления

грудины и не оказывает отрицательного влияния на регенерацию костной ткани после срединной стернотомии

## **ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ И РЕАЛИЗАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ**

Результаты настоящего исследования демонстрируют эффективность действия нового местного гемостатического ванкомицин-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы и возможности его использования в качестве альтернативного способа местного гемостаза и профилактики раневых инфекционно-воспалительных осложнений в кардиохирургии. Проведенное сравнительное исследование нового гемостатика с костным воском позволяет рекомендовать ОЦ-В к полноразмерным доклиническим и клиническим исследованиям.

## **ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ**

Диссертация изложена на 101 странице машинописного текста и состоит из введения; четырех глав, содержащих литературный обзор, описание используемых материала и методов исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов; ограничения исследования, выводы, список используемой литературы. Указатель литературы содержит 18 отечественных и 141 зарубежный источник. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 16 рисунками.

## **ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ**

- В условиях полной гепаринизации (АСТ>500) применение материала ОЦ-В позволяет снизить объем кровопотери из губчатого вещества грудины лабораторного животного в сравнении с костным воском

- Использование материала ОЦ-В для остановки кровотечения из губчатого вещества грудины не вызывает локального воспаления и не оказывает отрицательного влияния на регенерацию костной ткани
- Антимикробное действие ОЦ-В сходно по проявленной специфической фармакологической активности с аптечным ванкомицином

## **АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ И ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

Работа получила поддержку гранта Российского Фонда Фундаментальных исследований (РФФИ) конкурса инициативных проектов, выполняемых молодыми учеными («Мой первый грант») (договор № 16 16-34-00895\16 от 03.02.2016 г.).

По теме диссертации опубликовано 6 работ в центральных медицинских журналах России из перечня ВАК:

1. Чернявский А.М., Григорьев И.А., Ткачева Н.И., Морозов С.В., Таркова А.Р. // Контроль локального гемостаза с помощью препаратов окисленной целлюлозы / Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2014. – № 8. – С. 71 – 75.
2. Таркова А.Р., Чернявский А.М., Григорьев И.А., Морозов С.В., Ткачева Н.И., Родионов В.И. // Гемостатический материал местного действия на основе окисленной целлюлозы / Сибирский научный медицинский журнал. – 2015. – №2. – С. 11 – 15.
3. Таркова А.Р., Чернявский А.М., Морозов С.В., Григорьев И.А., Родионов В.И., Кравченко Н.И. / Эффективность различных форм местных гемостатических материалов на основе окисленной целлюлозы в эксперименте / журнал «Вестник хирургии им. И.И. Грекова». – 2015. – Т. 174. – №6. – С. 56 – 60.

4. Чернявский А.М., Таркова А.Р., Рузматов Т.М., Морозов С.В., Григорьев И.А. // Инфекции в кардиохирургии / Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2016. – №5. – С. 64 – 68.
5. Таркова А.Р., Морозов С.В., Ткачева Н.И., Григорьев И.А., Родионов В.И., Чернявский А.М. // Оценка гемостатических свойств нового местного антибиотик-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы в эксперименте / Сибирский научный медицинский журнал. – 2016. – Т.36. – №6. – С. 12 – 17.
6. Таркова А.Р., Чернявский А.М., Морозов С.В., Григорьев И.А., Ткачева Н.И., Родионов В.И. // Оценка эффективности действия нового местного гемостатического ванкомицин-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы в эксперименте / Сибирский медицинский журнал. – 2017. – Т.32. – №1. – С. 108 – 111.

Основные положения работы доложены и обсуждены на конференциях:

- X Международный симпозиум по химии природных соединений, г. Бухара, Узбекистан, 2013
- VI международная научно-практическая конференция «Научные перспективы XXI века. Достижения и перспективы нового столетия», г. Новосибирск, Россия, 2014
- Научно-практическая конференция с международным участием «Современные аспекты диагностики и лечения в кардиохирургии», г. Хабаровск, Россия, 2015
- XX Ежегодная сессия научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева МЗ РФ с всероссийской конференцией молодых ученых, г. Москва, Россия, 2016
- LVIII международная заочная научно-практическая конференция «Современная медицина: актуальные вопросы», г. Новосибирск, Россия, 2016

- VII съезд кардиологов, кардиохирургов, рентгенэндоваскулярных хирургов Республики Беларусь, г. Минск, Беларусь, 2016
- XVII Ежегодный научно-практический семинар молодых ученых «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической кардиологии» с Конкурсом молодых ученых, посвященным 80-летию со дня рождения академика РАМН В.В. Пекарского, г. Томск, Россия, 2017

Получен патент № 2563279 от 21.08.2015 «Способ получения гемостатического средства на основе окисленной целлюлозы с использованием микроволнового воздействия (варианты)».

### **ДОСТОВЕРНОСТЬ ВЫВОДОВ И РЕКОМЕНДАЦИЙ**

Использование признанных методик разработки дизайнов проведения клинических экспериментов, применение научного анализа с помощью методов статистической обработки и программного компьютерного обеспечения являются свидетельством достоверности результатов, полученных в ходе исследования. Выводы, представленные в настоящей работе, не получили критических замечаний и были опубликованы в рецензируемых изданиях.

### **ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРА**

Автором лично выполнены все операции по исследованию эффективности действия нового местного гемостатического ванкомицин-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы и забору экспериментальных образцов грудины для гистологического исследования. Автор является одним из соавторов полученного патента на изобретение. Автором был проведен статистический анализ результатов эксперимента и интерпретированы полученные данные. Личное участие автора в получении

научных результатов, представленных в диссертации, подтверждается соавторством в публикациях по теме диссертации.

Автор выражает глубокую признательность за ценные советы, поддержку и постоянное внимание своим наставникам: доктору медицинских наук, профессору Чернявскому Александру Михайловичу и кандидату химических наук, заведующему Лабораторией экологических исследований и хроматографического анализа ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова» Сибирского отделения Российской академии наук (НПОХ СО РАН) Морозову Сергею Владимировичу. А также искренне благодарит за помощь в выполнении этого исследования д.м.н. Покушалова Е.А, к.б.н. Сергеевичева Д.С., коллектив Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, коллектив Лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии ФГБУ «СФМБИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России и команду исследователей НПОХ СО РАН.

# **ГЛАВА I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ПРОБЛЕМЕ ОСЛОЖНЕНИЙ СРЕДИННОЙ СТЕРНОТОМИИ В КАРДИОХИРУРГИИ (литературный обзор)**

## **1.1 Современное состояние проблемы осложнений срединной стернотомии в кардиохирургии**

Срединная стернотомия – один из распространенных доступов к сердцу, широко применяемый в кардиохирургии, который включает в себе возможность развития целого ряда осложнений, наиболее неблагоприятным из которых является стернальная инфекция.

По данным мировой литературы послеоперационная стернальная инфекция и нестабильность грудины являются ведущими причинами увеличения заболеваемости, летальности, социально-экономических издержек и дискомфорта пациентов после кардиохирургических вмешательств [15]. При этом известно, что стернальная инфекция по данным разных авторов встречается в 0,5 – 4%, а летальность больных с развившимся послеоперационным гнойным медиастинитом достигает 32% [16,17,18,19,25,26,27,28].

Согласно рекомендациям Центра по контролю и профилактике заболеваний (США) (1999 г.), выделяют следующие виды стернальной инфекции: поверхностная стернальная раневая инфекция и глубокая стернальная раневая инфекция или медиастинит. Поверхностная стернальная раневая инфекция характеризуется вовлечением в инфекционный процесс кожи и/или подкожной жировой клетчатки в месте разреза, в то время как глубокая стернальная раневая инфекция характеризуется поражением ткани или пространства под подкожно-жировой клетчаткой и наличием у пациента хотя бы одного из нижеперечисленных критериев:

1. Выделение возбудителей из посевов медиастинальных тканей и жидкости

2. Интраоперационные доказательства медиастинита
3. Послеоперационные боли в грудине, нестабильность грудины или лихорадка ( $>38^{\circ}\text{C}$ )

Пациенты с гнойными выделениями из средостения или выделением возбудителей из посевов крови или дренажных потерь средостения так же входят в группу пациентов с глубокой стеральной раневой инфекцией [29].

### **1.1.1 Этиология возбудителей стеральной инфекции**

По данным мировой литературы в подавляющем большинстве случаев возбудителями стеральной инфекции являются грамположительные бактерии, в частности, золотистый стафилококк (SA) и коагулазоотрицательный стафилококк (CoNS) [18,19].

SA-медиастинит, по данным Gardlund B. с соавт. (2012 г.), встречается в 26% случаев послеоперационных медиастинитов [30]. Авторами было обнаружено, что данный медиастинит чаще встречается у пациентов после рестернотомий. При этом, течение медиастинита, как правило, классическое: с высоким уровнем маркеров воспаления и лихорадкой [17].

На долю CoNS приходится от 43% до 64% всех послеоперационных медиастинитов. Было обнаружено, что CoNS-медиастинит чаще всего возникает у пациентов с ожирением, хронической обструктивной болезнью легких, послеоперационной нестабильностью грудины [30]. Также было отмечено, CoNS-медиастинит в большинстве случаев встречается у пациентов, которым остеосинтез грудины выполнялся проволокой [30,31]. Ввиду того, что данные микроорганизмы синтезируют большое количество внеклеточного полисахарида, образуя защитную капсулу вокруг колонии, это существенно снижает эффект антибактериальной терапии и затрудняет санацию очага инфекции. При этом течение медиастинита, как правило, латентное, лихорадка и повышение маркеров воспаления, таких как С-реактивный белок, может отсутствовать [32]. Следовательно, единственно

возможным вариантом лечения данных пациентов является удаление инфицированного инородного тела.

Помимо грамположительной флоры, возбудителями стеральной инфекции может выступать грамотрицательная флора, а именно: *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella pneumoniae*, а также грибы [33]. Данная группа микроорганизмов является возбудителем медиастинита у пациентов с несанированными очагами инфекции [30].

### **1.1.2 Факторы риска возникновения стеральной инфекции**

В соответствии с «Российскими клиническими рекомендациями по хирургическому лечению больных послеоперационным медиастинитом и остеомиелитом грудины и ребер» (2014 г.) выделяют: предоперационные, интраоперационные и послеоперационные факторы риска возникновения стеральной инфекции [34].

К предоперационным факторам риска относят: хронические нарушения обмена веществ (ожирение, сахарный диабет); обострения хронических заболеваний легких (хроническая обструктивная болезнь легких, астма); нарушения функций выделительной системы (хроническая болезнь почек); снижение иммунологической реактивности организма; длительный прием лекарственных препаратов, снижающих свертываемость крови; прием стероидных гормонов, препаратов комплексного лечения гипертонической болезни.

Интраоперационными факторами риска являются: значительная кровопотеря, продолжительность операции, время искусственного кровообращения, компрессия (ишемия) в зоне операционной раны. Выделяют риск развития воспалительного процесса при наличии гематом, являющихся «инкубатором» для бактерий.

Послеоперационными факторами риска являются: нестабильность грудины, ишемия сосудов грудины, прорезывание швов грудины, рестернотомии, продолжительная искусственная вентиляция легких (ИВЛ),

непрямой массаж сердца, низкий сердечный выброс, респираторный дистресс-синдром, иммунодепрессия, неправильное ведение больного в послеоперационном периоде, декомпенсация хронических заболеваний.

В проведенном многофакторном анализе факторов риска возникновения послеоперационного медиастинита, Abboud C.S. с соавт. (2004 г.) было установлено, что наиболее значимыми факторами риска, связанными непосредственно с пациентом, являются ожирение и курение. Наиболее важными факторами риска, связанными с послеоперационным периодом, являются продолжительность пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии и наличие несанированных очагов инфекции [28].

Повторные операции, в частности экстренные рестернотомии, связанные с кровотечением в послеоперационном периоде, в некоторой литературе также признаны ведущими факторами риска развития медиастинита [35,36].

В проспективном исследовании Rehman S.M. с соавт. (2014 г.) выявили, что помимо пожилого возраста, ожирения и сахарного диабета, к дооперационным факторам риска относятся экстренная операция и длительное дооперационное нахождение пациента в стационаре ( $p < 0,05$ ). Авторами было обнаружено, что периоперационным фактором риска развития медиастинита у кардиохирургических больных является выполнение коронарного шунтирования в сочетании с протезированием аортального клапана пожилым пациентам с повышенным индексом массы тела ( $p < 0,05$ ) [18].

По данным Ghotaslou R. с соавт. (2008 г.) помимо вышеизложенных факторов риска, возникновению стеральной инфекции в послеоперационном периоде способствует госпитализация в стационар более чем за 3 дня до операции [33].

Нестабильность грудины сама в значительной степени связана с медиастинитом [37-42], что объясняется тем, что кожные и подкожные инфекции могут проникать в средостение ввиду отсутствия механического

барьера между престернальными тканями и средостением в виде грудины, вследствие ее нестабильности [30].

Ожирение является изменяемым предоперационным фактором риска развития медиастинита. Diez С. с соавт. (2007 г.), в свою очередь, сообщают, что риск развития медиастинита увеличивается на 3% на каждый дополнительный килограмм массы тела на площадь поверхности тела [43]. Поэтому снижение веса до операции позволяет снизить риск развития послеоперационного медиастинита [18].

Несмотря на большое количество факторов риска, особое внимание следует уделить периоперационным кровотечениям. По данным мировой литературы послеоперационное кровотечение достоверно увеличивает 30-дневную летальность [1] и значительно ухудшает течение послеоперационного периода у кардиохирургических пациентов [2]. Говоря об экономической составляющей, по данным литературы, послеоперационное кровотечение увеличивает сроки госпитализации в среднем на 3 дня, а также стоимость лечения в среднем на 20% [44].

Для избежания переливания аллогенной крови, минимизации посттрансфузионных осложнений и улучшения прогноза послеоперационных больных, все внимание должно быть направлено на остановку кровотечения в максимально короткие сроки, что возможно благодаря большому разнообразию местных гемостатических материалов, одним из которых является костный воск.

Широкое применение костного воска в кардиохирургии объясняется его высокой эффективностью в отношении остановки кровотечения из губчатого вещества грудины за счет образования практически непроницаемого гемостатического барьера [45], простым способом применения, а также отсутствием недорогих доступных альтернативных средств, не требующих дополнительной гемостатической терапии [15]. В связи с этим, лидеры мировые кардиохирургии, такие как Cooley D.A. (1984 г.), Doty D.B. (1997 г.) рекомендовали использование костного воска после срединной стернотомии

[46-49]. Однако Kirklin J.W. и Barratt-Boyes B.G. (1993 г.) были более сдержанными и рекомендовали применение костного воска только тонким слоем и только при активном кровотечении, по причине того, что использование костного воска может привести к возникновению инфекции и плохому заживлению грудины [50].

В экспериментах различными авторами было выявлено, что костный воск является одним из факторов риска возникновения стеральной инфекции: его использование ингибирует регенерацию костной ткани, тем самым препятствуя заживлению грудины [6,7,15] и способствует высокому риску возникновения стеральной инфекции [40,51-54]. В одном из исследований было отмечено, что костный воск не рассасывается в организме и вызывает хроническое воспаление костной ткани грудины в течение 10 лет с момента нанесения [55].

### **1.1.3 Профилактика возникновения стеральной инфекции**

Некоторые профилактические меры как в госпитальных, так и в амбулаторных условиях также доказали свою эффективность в отношении контроля инфекции в области хирургического вмешательства. К таким мерам относятся: ванны с хлоргексидином за 24 часа до операции, тщательная дезинфекция, жесткий контроль гликемического профиля, использование мазей на основе антибиотиков при обработке кожного шва, раннее назначение антибиотиков в случае гиперемии кожного шва, немедленная консультация пациентов, если первые признаки инфекции в области хирургического вмешательства появились после выписки из стационара [56].

В своем исследовании San Juan R. с соавт. (2007 г.), говоря о послеоперационном медиастините, вызванном SA, публикуют данные о том, что для предотвращения SA-медиастинита необходимо проводить предоперационную санацию носа мупироцином, в то время как MRSA –

ассоциированный медиастинит не связан с носовыми культурами и нуждается в контроле за госпитальной инфекцией в послеоперационном периоде [57].

Миниинвазивная хирургия и коронарное шунтирование на работающем сердце являются важными факторами в снижении частоты возникновения послеоперационного медиастинита ввиду уменьшения хирургической травмы и обеспечении более быстрого послеоперационного восстановления пациента [58,59].

Использование местных антибиотик-содержащих препаратов при срединной стернотомии, таких как гентамицин-коллаген, который был рекомендован центральным университетским госпиталем Хельсинки (Финляндия), также снижает частоту возникновения медиастинитов [60].

В своем исследовании Arruda M.V.F. с соавт. (2008 г.) продемонстрировали эффективность ванкомицина для профилактики послеоперационного медиастинита у кардиохирургических пациентов. В данном исследовании показано, что при нанесении на края грудины после срединной стернотомии пасты, содержащей 1 г ванкомицина и 1 мл физ/раствора, медиастинит возник у 5-ти пациентов из 1020 (0,49%). При этом отмечено, что всем пациентам с медиастинитом выполнялось коронарное шунтирование с использованием левой внутренней грудной артерии и у 4-х пациентов в анамнезе был инсулинзависимый сахарный диабет [61].

Gardlund B. с соавт. (2002 г.) утверждали, что если грамотрицательный медиастинит является серьезной проблемой в учреждении, то строгое соблюдение санитарно-гигиенических процедур позволяют уменьшить распространение внутрибольничных инфекций; если же в больнице преобладает медиастинит, вызванный золотистым стафилококком, то все меры должны быть направлены на выявление и ликвидацию источников бактерий в операционной, и на строгий контроль своевременного назначения антибиотиков в профилактических целях [30].

Периоперационное назальное назначение мупироцина продемонстрировало отсутствие возникновения инфекции, вызванной SA, в

95-100% случаев в период до 1 года после операции и снижение частоты возникновения инфекционных послеоперационных осложнений на 67% [62].

## **1.2 Методы остановки кровотечения**

Традиционные методы остановки кровотечения разнообразны и делятся на механические, химические, физические (термические) и биологические. К механическим методам относят перевязку и прошивание сосудов. Что касается остальных методов, то следует сказать, что все они применяются только при кровотечениях из мелких сосудов, при паренхиматозном и капиллярном кровотечении, так как кровотечение из вены среднего или большого калибра и тем более из артерии может быть остановлено только механически. К физическим методам остановки кровотечения относится электродиаатермокоагуляция, аргоноплазменная коагуляция, криовоздействие, лазерная фотокоагуляция, радиоволновое и ультразвуковое воздействие, электролигирование и др. Все методы остановки кровотечения оказывают как положительное, так и отрицательное влияние как на ткань, так и на организм в целом. Так, например, неблагоприятный эффект электродиаатермокоагуляции на паренхиму почки был выявлен Murphy J.J. с соавт. (2010 г.) [63]. Именно поэтому, в настоящее время в хирургической практике широко используются локальные гемостатические средства, обладающие адгезивными свойствами, закрывающие раневую поверхность, стимулирующие коагуляцию и вызывающие вазоконстрикцию. Эти средства должны удовлетворять определенным требованиям: вызывать в минимальный срок полное прекращение капиллярно-паренхиматозного кровотечения; обладать высокой адгезивностью, плотно прилегать к раневой поверхности и предотвращать возобновление кровотечения; не оказывать раздражающего действия на окружающие ткани; не влиять на функцию гемостаза в общем кровотоке; быть удобным в применении, равномерно и одновременно

закрывать раневую поверхность, легко сниматься с раневой поверхности при необходимости [64].

### **1.3 Разнообразие и краткая сравнительная характеристика местных гемостатических материалов**

На сегодняшний день существует широкий набор гемостатических средств различного химического строения и механизма действия, а также комбинированных препаратов для местной остановки кровотечений. В качестве основы для их производства используют коллаген, желатин, окисленную целлюлозу, альбумин, полисахариды, неорганические вещества, фибрин, полимеры и т.д. [45,65-67].

При сравнительной оценке и выборе гемостатических препаратов рассматривают их безопасность, эффективность, удобство в использовании, стоимость, доступность и другие факторы [68].

#### **1.3.1 Гемостатические материалы на основе коллагена**

Гемостатики на основе коллагена известны с 1970 года [69]. Микроволокнистая структура и большая площадь поверхности играют важную роль в достижении гемостаза [70]. Контакт материала с кровью вызывает адгезию тромбоцитов к волокнам коллагена, высвобождение биологически активных веществ, тем самым инициируя агрегацию тромбоцитов, что приводит к организации тромба. Для ускорения процесса тромбообразования в состав некоторых гемостатических материалов на основе коллагена добавляют тромбин. Коллаген, входящий в состав кровоостанавливающих препаратов, получают из дермы и сухожилий животных и используют в форме раствора, порошка, волокнистой массы, коллаген-фибриновой пасты, губки. На сегодняшний день наиболее известными гемостатическими материалами на основе коллагена являются Tachocomb® (Takeda, Austria), Avitene® (Davol), D-Stat® (Vascular Solutions), Instat™ (Ethicon), CoStasis®/Dynastat® /Vitagel™ (Cohesion Technologies),

Helistat® и Helitene® (Integra). Микроволокнистый порошок и нетканый материал (Superstat), коллагеновая губка (Collast), коллагеновый войлок (Collasipt), губка «Лиостипт», например, были созданы из коллагена дермы крупного рогатого скота. Побочные эффекты от воздействия гемостатических материалов на основе коллагена встречаются редко и чаще всего включают в себя аллергические реакции, образование спаек, ингибирование заживления послеоперационных ран и риск переноса зоонозных инфекций и прионных заболеваний [67].

### **1.3.2 Гемостатические материалы на основе желатина**

Механизм действия гемостатических материалов на основе желатина до конца не изучен, но, скорее всего, связан с высокой гигроскопичностью желатина, а не с прямым влиянием на факторы свертывания крови. Материалы на основе желатина могут быть использованы как отдельно, так и в сочетании с прокоагулянтами. Период рассасывания данных материалов в среднем 4 – 6 недель. К наиболее известным гемостатикам на основе желатина относятся: FloSeal® (Baxter Healthcare), «Спонгостан», «Medispon», Gelfoam® (Pharmacia & Upjohn), Surgifoam™ (Ethicon). Безопасность и реакция окружающих тканей на гемостатические материалы на основе желатина также до конца не изучены, однако, при субдуральной имплантации данных гемостатиков в эксперименте кроликам наблюдались признаки гранулематозного воспаления [67].

### **1.3.3 Альбумин-содержащие гемостатические материалы**

До недавнего времени из альбумин-содержащих препаратов наиболее часто использовали клей на основе формальдегида. Но, в связи с опасениями по поводу токсичности последнего и увеличения числа повторных операций, после его применения, хирургам пришлось от него отказаться [71]. В 1998 на рынке медицинской продукции появился клей BioGlue (CryoLife, США), который содержал в своем составе альбумин и глутаровый альдегид. Данные вещества хранятся в отдельных тубах шприца и смешиваются

непосредственно во время использования. Глутаральдегид образует ковалентные связи с альбумином и другими белками на поверхности раны, тем самым образуя мощный гемостатический барьер. Процесс связывания начинается через 20-30 секунд после смешивания и достигает своего максимума в течение 3 минут [72]. Важно отметить, что процесс связывания компонентов происходит независимо от механизма свертывания крови, а значит может использоваться у пациентов с нарушением коагуляции. Однако несмотря на все плюсы данного гемостатического средства, в мировой литературе описаны случаи клеевой эмболии, что в итоге приводило к обширным инфарктам миокарда [73], острой ишемии нижних конечностей [74].

#### **1.3.4 Полисахарид-содержащие гемостатические материалы**

Гемостатические агенты на основе полисахаридов появились относительно недавно. В настоящий момент доступными являются материалы, состоящие из N-ацетилглюкозамина, которые содержат гликозаминогликаны и микропористые полисахаридные полусферы. Гликозаминогликаны могут быть получены из морских микроводорослей в форме поли-N-ацетилглюкозамина, и из ракообразных в виде хитина и хитозана. Механизм действия поли-N-ацетилглюкозамина, как полагают, мультимодальный: с выпуском вазоактивных веществ (эндотелина) [75] и активацией тромбоцитов с их концентрацией в месте кровотечения [76]. Механизмы, лежащие в основе гемостатического действия хитозана, до конца не изучены, однако, было предложено, что его использование усиливает вазоконстрикцию, быструю мобилизацию тромбоцитов и факторов свертывания к месту травмы вследствие положительного заряда молекул на поверхности хитозана [77]. Материал может быть использован без предварительной подготовки и полностью адсорбируется в организме ферментами через 24-48 часов. Наиболее известными из полисахаридных гемостатических материалов являются CloSur, ChitoSeal, ChitoFlex (HemCon

Medical Technologies), TraumaDex (Medafor, Minneapolis, Minnesota, USA) и т.д.

### **1.3.5 Неорганические гемостатические материалы**

Наиболее известным неорганическим гемостатическим средством является продукт QuikClot (Z-Medica, USA). Данный материал создан на основе цеолита. Предполагается, что механизм его гемостатического действия основан на поглощении жидкой составляющей крови, что приводит к концентрации факторов свертывания и тромбоцитов на поверхности раны. Также существуют сообщения о том, что экзотермическая реакция, связанная с поглощением воды, может приводить к местному прижиганию кровоточащих сосудов [77,78].

### **1.3.6 Гемостатические материалы на основе фибрина**

Гемостатические материалы на основе фибрина широко используются в хирургии с 1970 года. Все фибрин-содержащие гемостатики состоят из источника фибриногена, который, под действием факторов свертывания, приводит к образованию плотного плохо растворимого сгустка [79]. Несмотря на высокую эффективность действия гемостатических материалов на основе фибрина, в литературе имеются сообщения о неблагоприятных эффектах, связанных с использованием данных гемостатиков: животное происхождение фибрина приводило к возникновению анафилактической реакции на их использование [80].

## **1.4 Гемостатические материалы на основе окисленной целлюлозы**

Приоритетным направлением исследований и разработок в медицине является создание новых биосовместимых и биodeградируемых изделий для хирургии. В этой связи представляют большой интерес гемостатические

препараты, для получения которых в качестве исходного сырья используют природные биополимеры, например, целлюлозу [81-83].

Применение целлюлозы в медицине обусловлено ее уникальными свойствами, такими как хорошая биосовместимость, нетоксичность, химическая инертность, достаточная волокнистость, механическая прочность, нерастворимость в воде. Преимуществом целлюлозы как основы для создания гемостатических средств является ее растительное происхождение, что способствует устранению инфекционных и других рисков, которые могут иметь место, например, при использовании средств животного происхождения. Кроме того, сырьевая база для получения целлюлозы практически неисчерпаема.

Одним из наиболее часто применяемых гемостатических препаратов, полученных на основе целлюлозы, является монокарбоксицеллюлоза (6-карбоксицеллюлоза, окисленная целлюлоза). Исследование гемостатических свойств окисленной целлюлозы были начаты в 40-е годы прошлого столетия [84]. Коммерчески доступные гемостатические материалы получают из ОЦ или ОРЦ. При получении последней, целлюлозу сначала растворяют, осаждают из раствора, затем перерабатывают в волокно и окисляют.

Различные способы получения окисленной целлюлозы, осуществленные в лабораторных условиях, подробно описаны в литературе [85,86]. Основным способом получения окисленной целлюлозы для применения в медицине в качестве местного гемостатического средства заключается в окислении целлюлозы оксидом азота (IV) [87]. Исходным материалом для окисления может служить хлопковая, древесная и регенерированная целлюлоза в виде трикотажа, волокна, марли, бязи, вискозной ткани и порошка. Качество окисленной целлюлозы и ее медицинские свойства в значительной степени зависят от условий окисления: концентрации оксида азота (IV), температуры и продолжительности процесса, агрегатного состояния окислителя (газообразное или жидкое). Процесс окисления протекает не полностью селективно – обычно в препаратах окисленной целлюлозы средней степени

окисления содержится 1-1,5% кетонных групп, которые расположены в основном у второго и третьего углеродных атомов элементарного звена макромолекулы целлюлозы. Для сильно окисленных препаратов содержание кетонных групп достигает 3%. Кето-группы при  $\text{pH}=7$  и выше инициируют разложение полимера путем образования лактона и разрыва цикла. Содержание карбоксильных групп и степень полимеризации окисленной целлюлозы играют важную роль в деградации окисленной целлюлозы *in vitro* и *in vivo*. Чем выше содержание карбоксильных групп и ниже степень полимеризации, тем быстрее происходит деградация окисленной целлюлозы. Содержание карбоксильных групп в окисленной целлюлозе, используемой в качестве гемостатического средства, составляет 16-24%. Содержание связанного азота не должно превышать 0,5 мас.%, что является необходимым условием использования окисленной целлюлозы в медицине. Полное окисление целлюлозы оксидом азота (IV) приводит к образованию полиглюкуроновой кислоты с 25,5% содержанием карбоксильных групп. Способность окисленной целлюлозы рассасываться в тканях живого организма так же является ее важнейшим свойством.

#### **1.4.1 Механизм гемостатического действия препаратов на основе окисленной целлюлозы**

Несмотря на то, что окисленная целлюлоза давно используется как гемостатическое средство, нет полного представления о механизме ее действия. В литературе приводятся следующие данные об исследованиях по изучению гемостатического действия окисленной целлюлозы.

По мнению Качмазова А.А. с соавт. (2010 г.) принцип гемостатического действия окисленной целлюлозы заключается в том, что при контакте с кровью создается кислая среда ( $\text{pH}$  2,5-3,0), которая усиливает гемостатические свойства ОЦ, основанные на ее впитывающих способностях. В кислой среде собственные тромбоциты и разрушившиеся эритроциты,

выделившие кислый гематин, выступают в роли каркаса для образования тромбоцитарного сгустка [88].

В работе Rušavá J. с соавт. (2003 г.) высказано предположение, что активация свертывающей системы плазмы крови вызвана, скорее всего, отрицательно заряженной поверхностью окисленной целлюлозы, которая способствует образованию тромбина [89]. В свою очередь Křížová P. с соавт. (2007 г.) установили, что окисленная целлюлоза не оказывает прямого эффекта на активацию тромбоцитов, а значительно усиливает действие VIII и XII факторов свертывающей системы крови [90].

Представление о гемостатическом действии окисленной целлюлозы, как сочетании адсорбции и физиологического гемостаза, приведено в работе Cheng W. с соавт. (2013 г.) [91]. Окисленная целлюлоза, благодаря высокой впитывающей способности, поглощает большую часть жидкой составляющей крови, повышая тем самым ее вязкость. Затем, за счет отрицательного электрического заряда карбоксильных групп, находящихся на поверхности окисленной целлюлозы, происходит адгезия и активация тромбоцитов. Также, вследствие низкого значения pH, окисленная целлюлоза вызывает вазоконстрикцию в зоне ее применения.

В работе Martina B. с соавт. (2009 г.) отмечено, что карбоксильные группы окисленной целлюлозы обладают способностью образовывать комплексы с ионами железа гемоглобина крови, что приводит к неспецифической агрегации тромбоцитов и формированию искусственного сгустка [92]. Описанный механизм гемостаза имеет важное значение для понимания путей формирования сгустка в местах повреждения сосудов организма, особенно вен.

#### **1.4.2 Окисленная целлюлоза: свойства**

Окисленная целлюлоза обладает широким спектром медико-биологических свойств, усиливающих ее терапевтический эффект. Она обладает выраженным гемостатическим действием, ранозаживляющим,

иммуностимулирующим, антибактериальным и противовирусным свойствами, полностью рассасывается в тканях живого организма, разрешена для применения в медицине во многих странах мира. Окисленная целлюлоза не токсична, не вызывает заметной воспалительной и аллергической реакций тканей организма, оказывает стимулирующее влияние на пролиферативную функцию соединительной ткани [92]. Также имеются экспериментальные данные о предотвращении образования послеоперационных спаек при её использовании [93-95]. По сравнению с другими местными гемостатическими средствами окисленная целлюлоза удобна в применении. Чаще всего она используется в виде ткани, что обеспечивает возможность моделировать ее по размеру и размещать на ране любой конфигурации.

Время рассасывания в организме человека зависит от количества взятого материала и места его применения и составляет для ОЦ – 21-28 дней, а для материалов на основе ОРЦ – 7-14 дней [67].

Одним из преимуществ окисленной целлюлозы является активность против широкого спектра патогенных микроорганизмов, которая обусловлена её кислотным характером (pH=2-4). Противомикробные свойства ОРЦ в исследованиях *in vitro* и *in vivo* подробно обсуждены в публикации [96]. Выраженная активность ОРЦ проявляется *in vitro* против коагулазоположительных стафилококков, синегнойной палочки и актинобактера [97] и микроорганизмов, резистентных к антибиотикам [98].

Сравнение гемостатических и бактерицидных свойств ОЦ (Traumastem®) и ОРЦ (Surgicel® Original) проведено в работе [99]. Показано, что бактерицидная активность ОЦ эквивалентна таковой для ОРЦ. По гемостатическому действию ОЦ превосходит ОРЦ, что, по-видимому, связано со структурой и толщиной волокон ОЦ, имеющих большую площадь поверхности по сравнению с площадью поверхности волокон ОРЦ, имеющих упорядоченную структуру. С целью улучшения гемостатических и

антибактериальных свойств и повышения биоразлагаемости окисленной целлюлозы проводятся исследования по её модификации [100,101].

Окисленная целлюлоза может служить основой для создания гемостатиков полифункционального действия. Например, эффективный гемостатический препарат местного действия «Поликапран» представляет собой окисленную целлюлозу с включением  $\epsilon$ -аминокапроновой кислоты как ингибитора фибринолиза [102]. Кроме того, окисленную целлюлозу комбинируют с другими гемостатическими средствами для успешного достижения гемостаза при различных операциях [63,103,104].

На мировом рынке гемостатики на основе ОЦ представлены в различных формах – марля, порошок, вата и др.

Наиболее известным и широко используемым в медицине материалом местного действия на основе ОЦ является гемостатическая марля «Surgicel» (Ethicon, США), которая находит применение практически во всех областях хирургии [105]. Так же не менее популярными материалами на основе окисленной целлюлозы являются: гемостатический порошок Equicel<sup>®</sup> волокнистый материал Surgicel<sup>®</sup>Fibrillar, нетканное волокно Surgicel<sup>®</sup>SNoW<sup>™</sup> (Ethicon, USA), материал Oxycel<sup>®</sup> (Becton Dickinson, USA), Pahacel<sup>®</sup>Standard Absorbable Hemostat (Altaylar, Republic of Turkey), порошок ChitoHem (ChitoTech<sup>®</sup>, Islamic Republic of Iran), «Оксицелодекс» (Россия), порошок TRAUMACEL S<sup>®</sup> (Bioster, Czech Republic), Поликапран (Беларусь), PROMOGRAN<sup>®</sup> (Systagenix Wound Management, UK) и т.д.

#### **1.4.3 Сравнение эффективности действия различных гемостатических материалов**

В мировой литературе приведено большое количество исследований, направленных на выявление, подтверждение и сравнение гемостатической активности различных кровоостанавливающих материалов, созданных на основе окисленной целлюлозы, коллагена, желатина, тромбина и т.д.

Так, Chalupova M. с соавт. (2012 г.), исследовали гемостатическую активность «Gelitacel» (материал на основе ОЦ) в сравнении с «Gelaspon» (материал на основе желатина) в эксперименте на крысах линии Wistar. При выполнении резекции каудального полюса левой почки и аппликации исследуемых гемостатиков к раневой поверхности отмечено, что время остановки кровотечения при использовании «Gelitacel» составило  $1,40 \pm 0,18$  мин, при использовании «Gelaspon» –  $2,33 \pm 0,27$  мин ( $p < 0,01$ ), что говорит о выраженной гемостатической активности материалов на основе ОЦ [106].

В свою очередь, по данным Takacs I. с соавт. (2010 г.), при сравнении гемостатических свойств материалов на основе ОЦ («Surgicel») с материалами на основе бычьего коллагена («Sangustop»), и лошадиного коллагена, покрытого фибрином и тромбином («TachoSil») путем выполнения стандартной резекции печени в эксперименте на свиньях было установлено, что время кровотечения при использовании «Sangustop» составило  $140 \pm 88$  сек, «TachoSil» –  $243 \pm 140$  сек и «Surgicel» –  $352 \pm 70$  сек, что говорит о выраженных гемостатических свойствах препаратов на основе коллагена в сравнении с препаратами на основе ОЦ [107].

В качестве хирургической модели для оценки гемостатических свойств «Surgicel» в мировой экспериментальной практике помимо кровотечения из моделированной раны паренхиматозного органа лабораторных животных, используется модель кровотечения из артериального анастомоза.

Так, Kheirabadi B.S. с соавт. (2002 г.) сравнили гемостатическую активность рассасывающейся желатиновой губки «Gelfoam», микрофибриллярного коллагена крупного рогатого скота «Avitene», окисленной регенерированной целлюлозы «Surgicel» и гемостатического агента «FloSeal», в состав которого входит желатиновая матрица и тромбин крупного рогатого скота, на кроликах, путем пересечения аорты в брюшном отделе и выполнении анастомоза конец-в-конец. На линию швов анастомоза наносили исследуемый гемостатический агент, поверх него хирургическую марлю и запускали кровоток. Интенсивность кровотечения определялась

путем взвешивания хирургической марли. В результате эксперимента выявлено, что по гемостатическим свойствам «Surgicel» (интенсивность кровотечения  $66,7 \pm 16,7$  мл) сопоставима с «Gelfoam» ( $66,4 \pm 17,6$  мл), превосходит «Avitene» ( $80,6 \pm 34,0$  мл) и уступает «FloSeal» ( $44,2 \pm 8,5$  мл). [108].

#### **1.4.4 Применение местных гемостатических средств на основе окисленной целлюлозы в хирургии**

##### **Кардиохирургия**

Белов Ю.В. с соавт. (2009 г.) представили опыт применения ОЦ в качестве гемостатического средства при операциях коронарного шунтирования. ОЦ использовали в виде лоскутов ткани после стернотомии, а также на завершающем этапе операции, после отключения от аппарата ИК – на этапе гемостаза и ушивания раны. В данном исследовании показано, что использование ОЦ для остановки диффузного кровотечения из мягких тканей и костей грудины при коагулопатиях у кардиохирургических больных позволяет снизить послеоперационную кровопотерю и, следовательно, уменьшить расход трансфузионных средств и время пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии, что опосредованно облегчает послеоперационный период и выгодно также с экономической точки зрения [109]. В недавно опубликованном проспективном рандомизированном исследовании Tavlasoglu M. с соавт. (2013 г.) была доказана эффективность использования ОЦ в сочетании с электрокоагуляцией в сравнении с воском и изолированной электрокоагуляцией при проведении гемостаза грудины во время операции на открытом сердце в условиях искусственного кровообращения [110]. В своем исследовании Wang C. с соавт. (2011 г.) показали, что ОЦ может быть использована в целях уменьшения кровотечения и профилактики инфицирования грудины у больных с тяжелым остеопорозом грудины после операций на открытом сердце в условиях ИК. 84 пациента, которым была выполнена операция на открытом сердце, были разделены на 2

группы: в первой группе пациентов после стернотомии края грудины обрабатывали ОЦ, а во второй – воском. В результате, в первой группе отмечается достоверно меньший объем дренажных потерь в раннем послеоперационном периоде, и использование меньшего объема трансфузионных средств. Так же в первой группе не было выявлено случаев медиастинита и рестернотомий, что доказывает гемостатические и бактерицидные свойства ОЦ [111].

### **Гепатобилиарная хирургия**

В проспективном рандомизированном многоцентровом слепом исследовании Öllinger R. с соавт. (2013 г.) сравнили эффективность гемостатиков на основе ОЦ и на основе фибрина во время открытой операции на печени. Время достижения гемостаза при использовании ОЦ составило 1 мин., а при использовании фибрина 3 мин. Меньшая кровопотеря у пациентов группы с использованием ОЦ позволила снизить объем гемотрансфузий, снизить риск инфицирования, риск возникновения послеоперационных осложнений и длительность пребывания в стационаре [112].

### **Урология**

Finley D.S. с соавт. (2005 г.) сообщили о 15 пациентах, у которых после лапароскопической клиновидной резекции небольших опухолей почки (1,1-3,5 см) был успешно применен бесшовный гемостаз при помощи двухслойного материала из фибринового клея и окисленной целлюлозы [104]. Для закрытия более обширных дефектов после лапароскопической клиновидной резекции небольших опухолей почки Novick A.C. с соавт. еще в 1989 г. сообщили об успешном использовании экзогенного материала, такого как окисленная целлюлоза. Ее применение позволяет достичь надежного закрытия дефекта паренхимы, не только за счет возможности плотно затягивать швы на поверхности паренхимы почки с меньшим риском их прорезывания и равномерным распределением давления по линии шва, но и за счет быстрого наступления тщательного и эффективного гемостаза [113].

### **Спинальная хирургия**

Sabel M. с соавт. (2004 г.) приводят данные об успешном применении ОЦ во время операций на спинном мозге. Помимо быстрой остановки кровотечения, которая существенно облегчает визуализацию операционной поля, авторы отмечают возможность использовать ОЦ в виде полос любых размеров. Большим преимуществом гемостатического препарата на основе ОЦ по сравнению с желатиновой губкой является возможность манипулирования, легкого перемещения ОЦ и не прилипания последнего к хирургическому инструментарию, в отличие от желатиновой губки. Также авторы рекомендуют после достижения адекватного гемостаза тщательно удалять остатки препарата ОЦ из раны во избежание сдавления им спинного мозга [114].

### **Торакальная хирургия**

Nabal P. с соавт. (2011 г.) в своем исследовании приводят данные о применении ОЦ для контроля гемостаза во время операции у пациентов со злокачественными новообразованиями органов грудной клетки до и после курсов химиотерапии. Было показано, что использование препаратов на основе окисленной целлюлозы может свести к минимуму интраоперационную кровопотерю, успешно остановить лимфорею; также отмечено, что биологическая основа препаратов ОЦ является показателем для безопасного их использования у данной категории пациентов, в связи с их частой подверженностью послеоперационной радиотерапии, где использование посторонних материалов затрудняет дальнейшее лечение [115].

### **Абдоминальная хирургия**

Chen Y. с соавт. (2009 г.) представили опыт применения ОЦ у пациентов с опасными для жизни пресакральными кровотечениями после резекции прямой кишки. Авторы отмечают, что ОЦ при контакте с кровью образует гелеобразную массу. Это соединение весьма эффективно останавливает кровотечение даже на неровных поверхностях операционной раны. ОЦ инертна, не вызывает реакцию окружающих тканей и абсорбируется через 7-

14 дней, оказывая при этом бактерицидное действие. При использовании ОЦ авторы отмечают эффективный гемостаз не только в раннем послеоперационном периоде, но и спустя 6-12 месяцев после операции [103].

### **Оториноларингология**

Karkos P.D. с соавт. (2007 г.) сообщают об использовании ОЦ для остановки послеоперационных кровотечений в эндоскопической синусной хирургии. Помимо эффективного гемостаза, результатом которого явилось отсутствие повторных госпитализаций по причине послеоперационного кровотечения, авторы отмечают противовоспалительный эффект от использования ОЦ за период наблюдения 6 месяцев после операции. А биоразлагаемость ОЦ позволила избежать необходимости удаления материала, тем самым уменьшая дискомфорт пациентов [116].

### **Реконструктивная хирургия**

Bassetto F. с соавт. (2008 г.) сообщают об использовании ОЦ в качестве эффективного гемостатического средства для контроля местного кровотечения при операциях глубокого фейслифтинга [117]. Christenson L.J. с соавт. (2004 г.) представили опыт применения ОЦ в пластической хирургии лица, обеспечивающую эффективный гемостаз без риска ишемии интерполяционных лоскутов [118].

### **Сосудистая хирургия**

В своем исследовании Kordestani S.S. с соавт. (2012 г.) сравнили эффективность метода традиционной мануальной компрессии места прокола бедренной артерии с методом применения ОЦ в сочетании с компрессионной терапией у пациентов после диагностической коронарографии. Несмотря на то, что повторных кровотечений и гематом ни при одной из методик обнаружено не было, в группе с применением ОЦ в сочетании с компрессионной терапией время достижения гемостаза было значительно меньше, чем в группе с применением мануальной компрессии ( $4,6 \pm 1,3$  против  $12,4 \pm 4,4$  минут, соответственно), что говорит об актуальности применения данного гемостатического препарата в лечении пациентов, перенесших

диагностическую коронарографию [119]. Ulrich D. с соавт. (2011 г.) в своем исследовании приводит данные о том, что использование ОЦ в виде гидроколлоидных повязок у пациентов с трофическими язвами при сахарном диабете приводит к значительному снижению уровня протеаз в раневом экссудате и уменьшению размеров язвенных дефектов [120].

### 1.5 Резюме

Несмотря на все вышеизложенные преимущества и доказанную гемостатическую эффективность, гемостатическая марля на основе ОЦ имеет некоторые недостатки. В частности, в литературе отмечены случаи неверной интерпретации в послеоперационном периоде фрагментов гемостатической марли в качестве послеоперационных абсцессов и рецидивов опухолей по данным компьютерной томографии [8]. В связи с этим, большой интерес представляет изучение альтернативных физических форм гемостатиков на основе ОЦ, например, формы порошка. В мировой литературе описаны примеры успешного использования гемостатических материалов в форме порошка в экспериментальных и клинических исследованиях в нейрохирургии, оториноларингологии, онкохирургии, эндоскопической хирургии и пр. В качестве гемостатического агента в исследованиях используются матрицы на основе полисахаридов, коллагена, желатина, хитозана, тромбина и др. [121-123].

Так, например, Yau A.H.L. с соавт. (2014 г.) в своем исследовании, изучая эффективность и механизм действия гемостатического неорганического порошка «Nemospray» (Cook Medical Inc., USA), установили, что гранулы «Nemospray», благодаря высокой адгезивной способности, хорошо прилипают к ране, создают прочный механический барьер, способствуют концентрации факторов свертывания в ране, и, тем самым, останавливают кровотечение [124]. В свою очередь Bang B.W. с соавт. (2015 г.) сообщили об экспериментальных исследованиях порошка «EGF-endospray», содержащего эпидермальный фактор роста и разработанного для эндоскопической

остановки желудочно-кишечных кровотечений. При моделировании кровотечения на лабораторных животных (кролики и мини-свиньи) порошок «EGF-endospray» доказал свою эффективность и был рекомендован авторами как перспективное гемостатическое средство для остановки кровотечений желудочно-кишечного тракта [125]. Vochicchio G.V. с соавт. (2015 г.) опубликовали результаты 3 фазы исследования «FINISH-3», цель которого заключалась в сравнении эффективности гемостатического порошка «Fibrocaps», состоящего из тромбина и фибриногена плазмы крови человека, и желатиновой губки в спинальной, сосудистой, гепатобилиарной хирургии и хирургии мягких тканей. Согласно представленным данным, «Fibrocaps» значительно уменьшает время кровотечения по сравнению с желатиновой губкой в исследуемых областях хирургии [126].

Но, несмотря на большое количество исследований об успешном использовании мелкодисперстных форм гемостатиков, данных о применении порошков на основе окисленной целлюлозы практически нет. Единичные исследования посвящены гемостатикам, применяемым, в основном, в эндоскопической хирургии. При этом авторы подчеркивают не только выраженные гемостатические свойства данных материалов, но и акцентируют внимание на их быстрой адгезии, абсорбции и отсутствии синехий после применения, что является немаловажным, например, в оториноларингологии [12].

В связи с тем, что ежегодно в Российской Федерации, как и в странах Европы и США, количество кардиохирургических операций, проводимых на открытом сердце с использованием искусственного кровообращения, постоянно увеличивается, актуальность снижения осложнений, увеличивающих летальность, сроки госпитализации и стоимость лечения, очень высока.

В настоящее время известно множество полимерных материалов, применяющихся в качестве носителей лекарственных веществ, но наибольший интерес представляет окисленная целлюлоза – признанный во

всем мире гемостатик, который, благодаря наличию карбоксильных групп, может быть использован в качестве матрицы для иммобилизации антибиотика посредством химической связи. Не менее важным является факт, что системные антибиотики слабо проникают в костную ткань [127,128].

Учитывая все вышеизложенное, внедрение нового местного гемостатического антибиотик-содержащего средства в клиническую практику позволило бы не только сделать прорыв в области борьбы с осложнениями кардиохирургических вмешательств и существенно снизить риск возникновения кровотечений и стерильных инфекций, но и вытеснить с российского рынка медицинской продукции менее эффективные зарубежные гемостатические средства, тем самым активно способствуя развитию импортозамещающих технологий в РФ.

## ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Дизайн исследования

Это пилотное экспериментальное исследование по изучению эффективности действия нового местного гемостатического ванкомицин-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы в сравнении с костным воском для остановки кровотечения из губчатого вещества грудины и профилактики локального воспаления грудины в послеоперационном периоде на основании объема интраоперационной кровопотери из губчатого вещества грудины при срединной стернотомии и гистологического исследования срезов грудины.

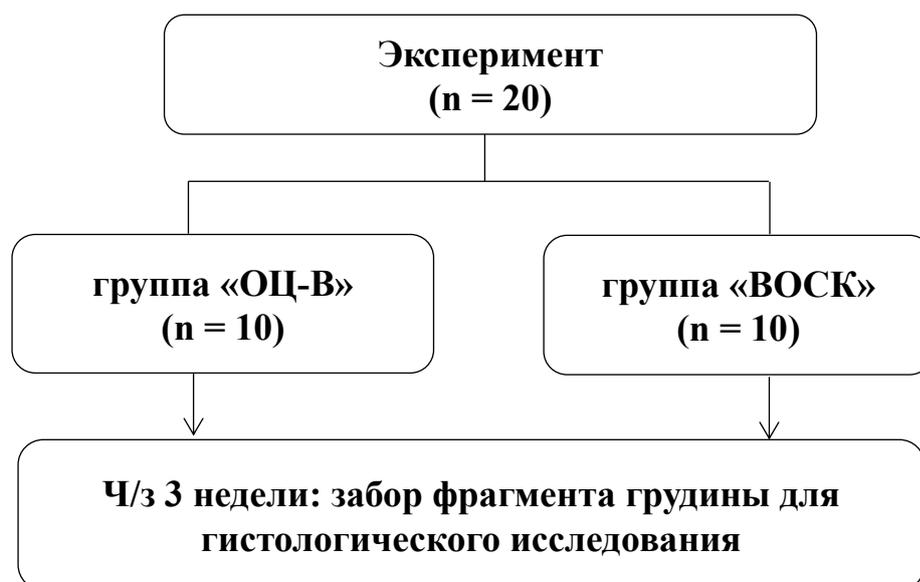


Рисунок 1. Дизайн исследования

Лабораторным животным после выполнения срединной стернотомии на губчатое вещество грудины наносился 1 грамм гемостатического материала, в зависимости от группы.

#### **Конечные точки:**

- Первичная конечная точка:
  - Объем интраоперационной кровопотери (мл) в течение 1 часа

- Вторичные конечные точки:
  - Клинические признаки воспаления (отек, гиперемия, гнойное отделяемое из послеоперационной раны)
  - Гистологические признаки воспаления (выраженность воспалительной инфильтрации: слабая, выраженная)
  - Степень формирования костных балок (слабая, умеренная, выраженная)
  - Количество сосудов в межбалочном пространстве (малое, умеренное, большое)
  - Количество фибробластов (малое, умеренное, большое)
  - Антимикробное действие в условиях *in vitro* в сравнении с аптечным ванкомицином

### **Обоснование выбора контрольной группы:**

В качестве контрольной группы для остановки кровотечения был выбран костный воск в следствие того, что он широко используется в кардиохирургии, быстро и эффективно останавливает кровотечение из губчатого вещества грудины [15], легко наносится, является доступным и дешевым средством и не имеет альтернативных недорогих аналогов [45].

## **2.2 Характеристика лабораторных животных**

Эксперимент проводился в условиях Лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии ФГБУ «Сибирский федеральный биомедицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России. В качестве хирургической модели были выбраны мини-свиньи обоего пола в количестве 20 штук. Средний возраст животных составил 6 месяцев.

Экспериментальную работу осуществляли согласно этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных, в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях № 123 от 18 марта 1986 г., г. Страсбург, и приказом Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Все

экспериментальные исследования на животных проводили в условиях специализированной ветеринарной операционной под наркозом, с соблюдением правил асептики и антисептики (рис. 2).

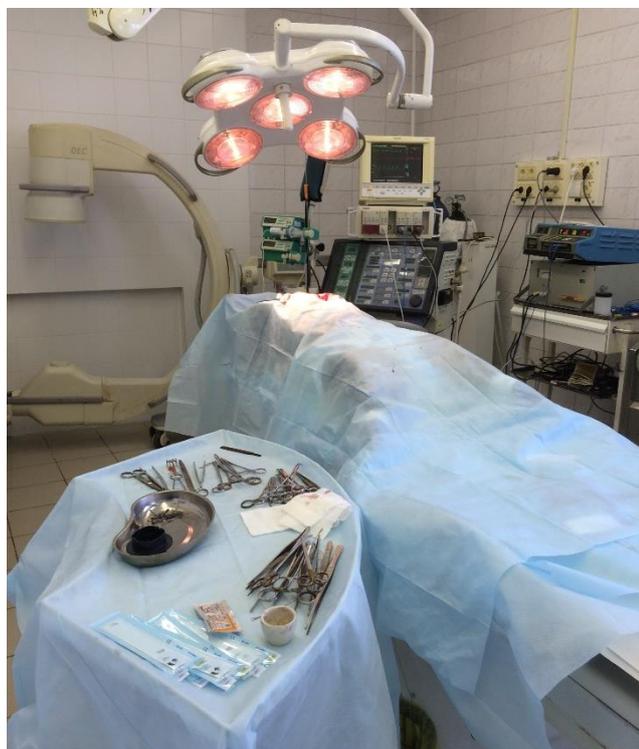


Рисунок 2. Общий вид операционной

Таблица 1

Демографические характеристики животных по группам.  
Количественные признаки представлены как среднее (стандартное отклонение) и медиана (25; 75 перцентиль)

Признак	Группа «ВОСК» (n=10)	Группа «ОЦ-В» (n=10)	p, уровень
Вес животного (кг)	43 ( $\pm 10$ )	45 ( $\pm 10$ )	>0,99
Площадь продольного среза грудины (см <sup>2</sup> )	10,2 [8,0; 17,4]	12,8 [3,6; 15,2]	0,43

Данные, представленные в таблице 1, демонстрируют сопоставимость животных по весу и площади продольного среза грудины после срединной стернотомии.

Таблица 2

Показатели АСТ до и после операции.  
Данные представлены как среднее (стандартное отклонение)  
и медиана (25; 75 процентиль)

Показатель	Группа «ВОСК» (n=10)	Группа «ОЦ-В» (n=10)	p, уровень
АСТ до операции (сек)	1500 [1383; 1500]	1500 [1421; 1500]	>0,99
АСТ после операции (сек)	131 ( $\pm$ 34)	139 ( $\pm$ 37)	>0,99

В таблице 2 представлены данные о сопоставимости животных по показателям АСТ до и после операции.

Таким образом, согласно вышеописанным данным, группы экспериментального исследования были сопоставимы между собой по указанным признакам. Полученные данные были подтверждены статистически.

## 2.3 Описание используемых материалов

### 2.3.1 Характеристика комплекса ОЦ-В

Комплекс ОЦ-В представляет собой мелкодисперсный порошок, 1 грамм которого содержит окисленную целлюлозу и антибиотик ванкомицин в соотношении 3:1.

Непосредственно перед нанесением на губчатое вещество грудины ОЦ-В смешивают до однородной массы с 0,9% физиологическим раствором комнатной температуры в соотношении 1:1 (рис. 3).



Рисунок 3. Гемостатическое средство ОЦ-В

Для получения водного раствора ОЦ-В, порошок смешивают с водой в необходимой пропорции и 30 минут перемешивают получившуюся суспензию для растворения антибиотика. Затем выдерживают суспензию в статичном состоянии в течение получаса до полного осаждения второго нерастворимого компонента препарата. Надосадочную жидкость (полученный раствор ванкомицина) используют для экспериментов в условиях *in vitro*.

### **2.3.2 Характеристика костного воска**

В экспериментах был использован костный воск «Bonewax» (Ethicon, USA). В состав костного воска, согласно инструкции фирмы-производителя, входит:

1. белый пчелиный воск – 75% по массе;
2. парафин восковой – 15% по массе;
3. пальмитат изопропила – 10% по массе.

### **2.3.3 Характеристика аптечного ванкомицина**

Ванкомицин (аптечный препарат) – антибактериальный препарат, продуцируется *Amycolatopsis orientalis*, действует бактерицидно на большинство грамположительных микроорганизмов (на энтерококки – бактериостатически). Блокирует синтез клеточной стенки бактерий в участке, отличном от того, на который действуют пенициллины и цефалоспорины (не конкурирует с ними за участки связывания), прочно связываясь с D-аланил-D-

аланиновой частью предшественника клеточной стенки, что приводит к лизису клетки. Способен также изменять проницаемость клеточных мембран бактерий и избирательно тормозить синтез рибонуклеиновой кислоты. Активен в отношении грамположительных микроорганизмов: *Staphylococcus* spp. (включая пенициллиназообразующие и метициллинорезистентные штаммы), *Streptococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae* (включая штаммы, резистентные к пенициллину), *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp., *Actinomyces* spp. Активно действует только на микроорганизмы, находящиеся в стадии размножения. Устойчивы почти все грамотрицательные бактерии, *Mycobacterium* spp., грибы, вирусы, простейшие. Не имеет перекрестной резистентности с другими антибиотиками.

### 2.3.4 Характеристика тест-штаммов патогенных микроорганизмов

В качестве патогенных тест-штаммов использовали грамположительные микроорганизмы, относящиеся к IV группе патогенности, из состава «Коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»» Роспотребнадзора (табл. 3).

Таблица 3

Перечень патогенных микроорганизмов, использованных в работе

№ п/п	Тест-культура	Колл.№	Грам-реакция	Группа патогенности	Коагулазная активность	Примечание
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	В-1266	+	4	+	Тест-штамм
2	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	В-1033	+	4	+	--<<
3	<i>Enterococcus faecium</i>	В-1268	+	4	+	--<<
4	<i>Streptococcus pyogenes</i>	В-1336	+	4	+	--<<
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	В-1349	+	4	+	MRSA
6	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	В-1350	+	4	-	MRSE

Обозначения: + положительная реакция; - отрицательная реакция

- Штамм *S. aureus* B-1266 – типовой штамм, рекомендованным Фармакопеей РФ для тестирования лекарственных препаратов
- Штаммы *S. pneumonia* B-1033, *E. faecium* B-1268 и *S. pyogenes* B-1336 включены в исследование как виды, имеющие широкое распространение в числе возбудителей внутрибольничных инфекций
- Штамм *S. aureus* B-1349 – коагулазоположительный мультирезистентный стафилококк (MRSA)
- Штамм *S. epidermidis* B-1350 – коагулазоотрицательный штамм (MRSE)

## **2.4 Описание методов исследования**

### **2.4.1 Анестезиологическое обеспечение**

Вид анестезии: тотальная внутривенная. В качестве премедикации животным вводили внутримышечно Золетил (Virbac Sante Animale, Франция) в стандартном разведении в дозе 0,05мл/кг + Атропина сульфат в дозе 0,02 мл/кг. После достижения адекватной седации устанавливали внутривенный катетер. После закрепления животного на операционном столе, его переводили на масочную ИВЛ и проводили индукцию, состоящую из следующих элементов:

- 1) Пропофол, болюсно, дозой 5-10 мг/кг; затем постоянной инфузией со скоростью 3-10мг/кг/час для поддержания необходимой глубины анестезии
- 2) Фентанил, болюсно, дозой 12,5 нг/кг в виде 0,005% раствора
- 3) Ардуан, болюсно, 0,1 мг/кг

По достижении достаточной миорелаксации и глубины анестезии, животное интубировали по классической технике эндотрахеальной трубкой подходящего диаметра и подключали к аппарату ИВЛ (Nellcore Puritan Bennett 760). Основной этап анестезии включал в себя:

- инфузию Пропофола с постоянной скоростью, указанной выше;
- болюсы Фентанила в дозе 4-6,5 нг/кг в виде 0,005% раствора каждые 20 минут операции и при необходимости;

- болюс Ардуана в дозе 0,05мг/кг на стадии кожно-мышечного разреза для снижения рефлекторных сокращений мышц.

Кроме того, во время анестезии проводилось поддержание кровообращения кристаллоидами (NaCl 0,9% либо раствор Рингера в объёме ~30мл/кг + объём кровопотери в течение операции), а также вводился антибиотик (Цефазолин, 15мг/кг) за 30 мин до кожного разреза и после операции в такой же дозе. В течение всей анестезии, проводился мониторинг следующих показателей: пульсоксиметрия, ЭКГ в II отведении, температура тела животного, инвазивное артериальное давление. После окончания операции животному отменяли все анестезиологические препараты и постепенно переводили на спонтанное дыхание. Далее животное экстубировали по стандартной методике и переводили на восстановление в виварий.

#### **2.4.2 Метод оценки гемостатических свойств**

Изучение гемостатических свойств исследуемых материалов осуществляли путем оценки объема интраоперационной кровопотери из губчатого вещества грудины в течение 1 часа в условиях полной гепаринизации (ACT>500 сек). После тщательного гемостаза мягких тканей с помощью электрокаутера, лабораторному животному осуществляли введение гепарина из расчета 3 мг/кг массы тела и измерение ACT на портативном коагулометре «Haemochron response» («Accriva diagnostics», США). По достижении цифр ACT >500 сек, что соответствует целевым значениям активированного времени свертывания во время искусственного кровообращения, выполняли срединную стернотомию. После срединной стернотомии осуществляли измерение площади губчатого вещества срезов грудины. Далее на губчатое вещество наносили гемостатический материал в количестве 1 грамма в соответствии с группой животного (рис. 4).

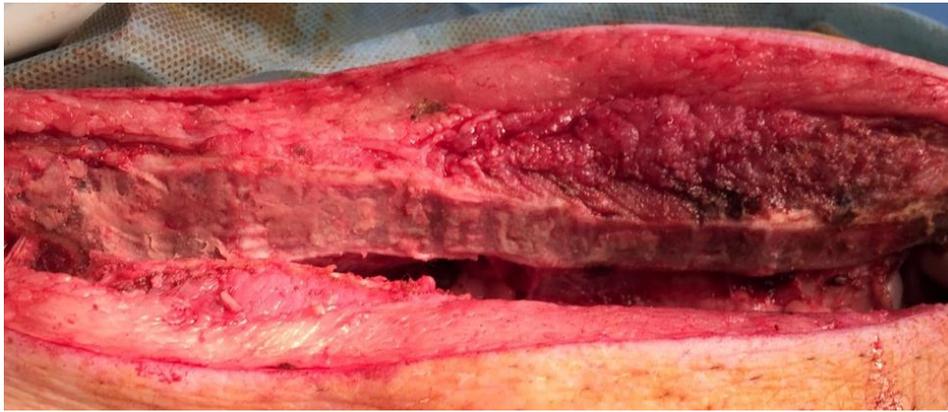


Рисунок 4. Срез грудины лабораторного животного с нанесенным ОЦ-В

На каждый фрагмент грудины накладывали марлевую салфетку, размером 5x5 см, и осуществляли наблюдение в течение 1 часа (рис. 5).



Рисунок 5. Грудина лабораторного животного с марлевыми салфетками

По прошествии времени, салфетки поочередно взвешивали на электронных лабораторных весах ВР610 («Сартогосм», Россия). Перед ушиванием грудины повторно измеряли показатели АСТ. При превышении нормы (80-140 сек), лабораторному животному вводили половину дозы протамина сульфата для нейтрализации гепарина.

После тщательного гемостаза и установки дренажа в загрудинное пространство выполняли ушивание грудины леской по методике полиспафт. Ушивание подкожно-жировой клетчатки и кожи выполняли единым блоком

отдельными узловыми швами. Далее на послеоперационный шов наносился «Алюминий спрей» (Nicovet, Германия), который образует плотную пленку и предотвращает бактериальную контаминацию. Дренаж удаляли на следующий день после операции (рис. 6).



Рисунок 6. Лабораторное животное после операции

### **2.4.3 Методы оценки локального воспаления**

Локальное воспаления было исследовано путем оценки клинических и гистологических признаков воспаления. Клинические признаки воспаления после применения ОЦ-В и костного воска оценивали наблюдением за лабораторными животными в течение 3 недель после операции. Для клинического контроля возникновения раневой инфекции проводили ежедневный осмотр послеоперационного шва на наличие признаков воспаления: отек, гиперемия, гнойное отделяемое из послеоперационной раны.

Для оценки гистологических признаков воспаления через три недели после операции применяли морфологический метод. К гистологическим признакам воспаления относили выраженность воспалительной инфильтрации (слабая, выраженная).

## **2.4.4 Метод оценки антибактериальной активности ОЦ-В и аптечного ванкомицина *in vitro***

### **Приготовление растворов антибиотиков**

Из рабочих растворов препаратов с концентрацией ванкомицина 5 мг/мл готовили растворы с концентрацией антибиотиков 50, 25, 10 и 5 мкг/мл.

Рабочая концентрация исследуемых антибиотиков –  $C=5$  мг/мл.

- А) 50 мг аптечного ванкомицина растворяли в 10 мл дистиллированной воды, таким образом получали раствор препарата Ванкомицин с концентрацией 5 мг/мл.
- Б) Так как в 1 г исследуемого порошка ОЦ-В содержится 0,3 г ванкомицина, то для получения навески 50 мг ванкомицина потребуется 167 мг исследуемого порошка. Навеску 167 мг исследуемого порошка растворяли в 10 мл дистиллированной воды, перемешивали 30 мин и далее в течение 30 мин осаждали нерастворимый компонент порошка. В надосадочной жидкости таким образом получают раствор ванкомицин-содержащего препарата с расчетной концентрацией 5 мг/мл.

**Диффузионный метод исследования бактериостатического, бактерицидного действия препаратов при высеве тест-штаммов на агаризованные среды методом «колодцев».**

Для определения антимикробной активности лекарственных препаратов суточные агаровые культуры тест-штаммов микроорганизмов суспендируют в физиологическом растворе до оптической плотности  $1-5 \times 10^{5-6}$  кл./мл и по 100 мкл равномерно распределяют на поверхности агаризованной питательной среды в чашках Петри. В асептических условиях в засеянной агаровой пластинке вырезают лунки («колодцы»), вносят в них по 100 мкл растворов испытуемых антибиотиков и помещают в холодильник при температуре 6-9°C для диффузии препаратов в слой агара. Рост культур в этих температурных условиях замедлен или приостанавливается. Далее, чашки с посевами

инкубируют в течение 24-48 часов при температуре 37°C. Положительный результат устанавливают по наличию вокруг лунки с препаратом зоны отсутствия (лизиса) или угнетения роста тест-штамма. Размер зоны учитывают в мм.

При тестировании ванкомицина четкий край и диаметр зоны подавления роста больше пограничного значения свидетельствует о чувствительности микроорганизма к нему. Нечеткий край зоны подавления роста или рост изолированных колоний внутри зоны свидетельствуют о резистентности к ванкомицину. Если край зоны подавления не четкий, но ее диаметр  $\geq 12$  мм, необходимо продолжить инкубацию до 24 ч. Заключение о чувствительности микроорганизма к ванкомицину может быть сделано только после 24 ч инкубации. Гистограммы и таблицы распределения диаметров зон подавления роста, полученных с использованием диско-диффузионного метода описаны EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) [129].

В соответствии с EUCAST пограничные значения диаметров зон подавления роста в зоне диффузии ванкомицина для контрольных чувствительных штаммов составляют:

- для *E. faecium*  $\geq 17$  мм,
- для *Streptococcus* spp. (*S. pyogenes*, *S. pneumonia*)  $\geq 17$  мм,
- для *Staphylococcus* spp. (*S. aureus*, MRSA, MRSE)  $\geq 15$  мм.

### **Определение резистентности тест-штаммов микроорганизмов к антибиотикам при культивировании в жидкой питательной среде.**

Для выполнения данной методики тест-штаммы микроорганизмов высевают на агаризованную питательную среду и инкубируют при температуре 37°C в течение 24-48 часов. Далее, выросшие агаровые культуры суспендируют в физиологическом растворе до оптической плотности  $10^{5-6}$  кл./мл и по 100 мкл полученной суспензии вносят в пробирки с жидкой средой (бульон Миллера, Difco, США) с добавлением образцов антибиотиков в необходимых концентрациях.

Контролем служат варианты посева тест-штаммов в среду бульона Миллера, где образцы антибиотиков не добавлены. Общий объем среды с внесением всех компонентов составляет 5 мл. Пробирки с посевами инкубируют на термостатированной качалке, при температуре 37°C, в течение заданного времени. Полученные культуральные жидкости и их десятикратные разведения в физиологическом растворе, приготовленные микрометодом с использованием 96-ти луночных планшетов, засевают на агаризованные среды по 10 мкл в 3-х повторах для определения титра клеток тест-штаммов в опытных и контрольных вариантах. Инкубируют посеvy при температуре 37°C в течение 24-48 часов. Далее определяют среднее число колониеобразующих единиц в 10 мкл каждого варианта и делают пересчет на 1 мл культуральной жидкости, определяя таким образом, количество жизнеспособных клеток в культуральной жидкости (КОЕ/мл).

Уменьшение титра клеток в опытных вариантах, в сравнении с контрольным, где антибиотики не были добавлены, свидетельствует о чувствительности микроорганизма к данному препарату.

#### **2.4.5 Метод морфологического исследования срезов грудины**

Через 3 недели после хирургического вмешательства, лабораторному животному выполняли эвтаназию (Тиопентал натрия 100 мг/кг внутривенно) и осуществляли забор грудины для морфологического исследования (рис. 7).



Рисунок 7. Грудина лабораторного животного через 3 недели после операции

Для оценки влияния на регенерацию костной ткани применяли гистологический метод. Исследовали степень формирования костных балок (слабая, умеренная, выраженная), количество фибробластов (малое, умеренное, большое) и количество сосудов в межбалочном пространстве (малое, умеренное, большое).

Первым этапом выполняли фиксация материала грудины с помощью формалина. Для фиксации были выпилены небольшие кусочки кости (толщиной 0.5-1 см). Срок фиксации – 48 часов. При окончании фиксации объекты тщательно промывали в проточной водопроводной воде. После этого с целью обезжиривания препарат проводили через ряд спиртов повышающейся концентрации (50, 70 и 96%), а затем доводили до воды через спирты нисходящей концентрации. Декальцинация достигалась обработкой костной ткани с помощью декальцинирующих жидкостей. Для приготовления рабочего раствора в мерную колбу наливали 5-7,5 мл химически чистой

концентрированной азотной кислоты (плотность 1,40) и доливали до 100 мл дистиллированной воды. Налив нужное количество жидкости в подходящий стеклянный сосуд, в нее подвешивали подготовленный к декальцинации кусочек кости. Раствор меняли ежедневно до наступления полной декальцинации. Средняя продолжительность декальцинации составила 21 день. По окончании декальцинации для устранения набухания волокнистых структур препарат подвешивали на 24 часа в 5% раствор сульфата натрия, затем промывали в течение двух суток в проточной водопроводной воде. После этого костную ткань резали на замораживающем микротоме, и заливали в целлоидин или целлоидин - парафин обычным путем.

Далее выполняли окрашивание срезов гематоксилин-эозином. Парафиновые срезы, наклеенные на предметные стёкла, освобождали от парафина, производили гидратацию срезов путём поэтапного помещения их в спирты убывающей концентрации (96°, 80°, 60°, 40°), а затем в дистиллированную воду. Окрашивали срезы сначала раствором ядерного (основного) красителя – гематоксилина. После этого срезы переносили в водопроводную воду, которая имеющую щелочную среду, для окисления гематоксилина. При этом он приобретал синий цвет, а затем всполаскивали в дистиллированной воде. Далее окрашивали срезы раствором цитоплазменного (кислого) красителя – эозина. Избыток красителя смывали дистиллированной водой. Затем окрашенные срезы обезвоживали, просветляли в карбол-ксилоле, а затем – в двух порциях ксилола. Заключительным этапом на срез стеклянной палочкой наносили маленькую каплю раствора канадского бальзама (полистирола, дамар-лака и др.) и накрывали обезжиренным покровным стеклом, осторожно опуская его под углом, стремясь избежать попадания пузырьков воздуха.

Анализ гистологических процессов проводили на микроскопе «Axioscop 40» с фотокамерой «AxioCam MRc5» («Carl Zeiss», Германия). Измерения проводили с использованием системы «AxioVision» при увеличении в 100 раз. Определение объемной плотности костных балок, фибробластов и сосудов в

межбалочном пространстве осуществляли с помощью закрытой тестовой системы из 100 точек площадью 3,64x10 в 5 мкм.

## **2.5 Методы статистической обработки полученных данных**

Все статистические расчёты проводились в программе Rstudio (version 0.99.879 – © 2009-2016 RStudio, Inc., USA, 250 Northern Ave, Boston, MA 02210 844-448-121, info@rstudio.com) на языке R (R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org>).

Перед началом анализа была рассчитана описательная статистика: графический анализ распределения данных, исследование законов распределения данных, расчет основных статистических характеристик – среднего значения, стандартного отклонения, стандартной ошибки, медианы, первого и третьего квартилей, минимального и максимального значений, был проведен разведочный анализ данных с проверкой исследуемых данных на наличие выпадающих значений. Эмпирические распределения данных были испытаны на согласие с законом нормального распределения по критериям Шапиро-Уилка, Андерсона-Дарлинга, Крамера-фон Мизеса, Лиллиефорса и Шапиро-Франца. Ввиду отсутствия нормального распределения, сравнительный анализ проводился непараметрическими методами. Дескриптивные характеристики представлены в виде медиана [первый квартиль; третий квартиль] для ненормально распределенных числовых данных, процент (нижняя граница 95%ДИ; верхняя граница 95%ДИ) для категориальных данных с вычислением границ доверительных интервалов (ДИ) по формуле Вильсона. Для статистической проверки гипотез о равенстве числовых характеристик выборочных распределений в сравниваемых группах использовался непарный U-критерий Манна-Уитни, производился расчет смещения распределений с построением 95% доверительного интервала для смещения. Для статистической проверки гипотез о равенстве распределений категориальных показателей использовался точный критерий Фишера.

Проверка статистических гипотез проводилась при критическом уровне значимости  $p = 0,05$ , т.е. различие считалось статистически значимым, если  $p < 0,05$ . Нижняя граница доказательной мощности бралась равной 80%.

## ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА

### 3.1 Анализ объема интраоперационной кровопотери

При сравнении объема интраоперационной кровопотери в течение 1 часа обнаружено, что медиана объема кровопотери в группе «ВОСК» составила 12,79 [12,36; 13,68] мл, а в группе «ОЦ-В» – 6,95 [1,57; 8,1] мл ( $p < 0,001$ ). Полученные данные представлены на рисунке 8.

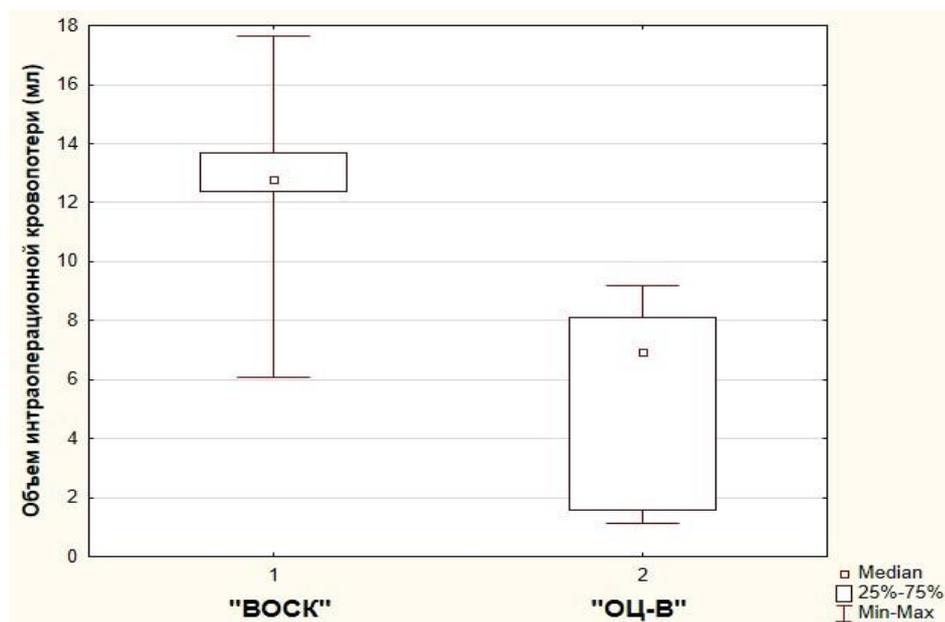


Рисунок 8. Оценка объема интраоперационной кровопотери (мл) в течение 1 часа в группах. Данные представлены в виде медианы и межквартильных процентилей

Сравнение медиан объема кровопотери в группах «ВОСК» и «ОЦ-В» показало наличие статистически значимой разницы. В группе «ОЦ-В», в отличие от группы «ВОСК» распределение кровопотерь было несимметричным, в меньшую сторону относительно медианы.

Перед ушиванием грудины при повторном измерении показатели АСТ в обеих группах были в пределах нормы (80-140 сек), поэтому введение протамина сульфата не требовалось.

### 3.2 Анализ локального воспаления

Анализ локального воспаления включал: оценку клинических признаков (гипертермия, отек, гнойное отделяемое из послеоперационной раны) и гистологическую оценку воспалительной инфильтрации (слабая, выраженная).

В течение трех недель после операции клинических признаков воспаления ни в одной из групп обнаружено не было. У всех лабораторных животных обеих групп отмечалось заживление послеоперационного шва первичным натяжением. Отека, гиперемии и гнойного отделяемого из послеоперационной раны не наблюдалось.

При гистологическом исследовании срезов грудины через 3 недели после операции обнаружено, что выраженная воспалительная инфильтрация чаще встречалась в группе «ВОСК», чем в группе «ОЦ-В» ( $p=0,02$ ). Различия в группах являются статистически значимыми согласно точному критерию Фишера (таб. 4).

Таблица 4

Сравнение воспалительной инфильтрации в группах

Признак	Группа «ВОСК» (n=10)	Группа «ОЦ-В» (n=10)	p, уровень
выраженная	7	1	0.02
слабая	3	9	

В группе «ОЦ-В» были обнаружены гистологические признаки слабой воспалительной инфильтрации, которые представлены фрагментом фиброзной ткани с мононуклеарными клетками и единичными нейтрофилами (рис. 9).

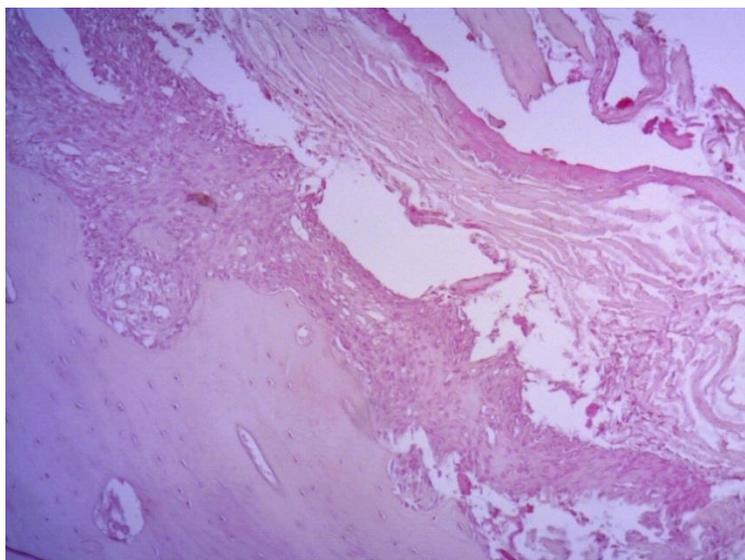


Рисунок 9. Срез грудины с нанесенным материалом группы «ОЦ-В». Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x100

Гистологический анализ срезов грудины группы «ВОСК» продемонстрировал в большинстве случаев явления выраженной воспалительной инфильтрации, которая была представлена фрагментами фиброзной ткани преимущественно с мононуклеарными клетками, местами нейтрофилами и макрофагами (рис. 10).

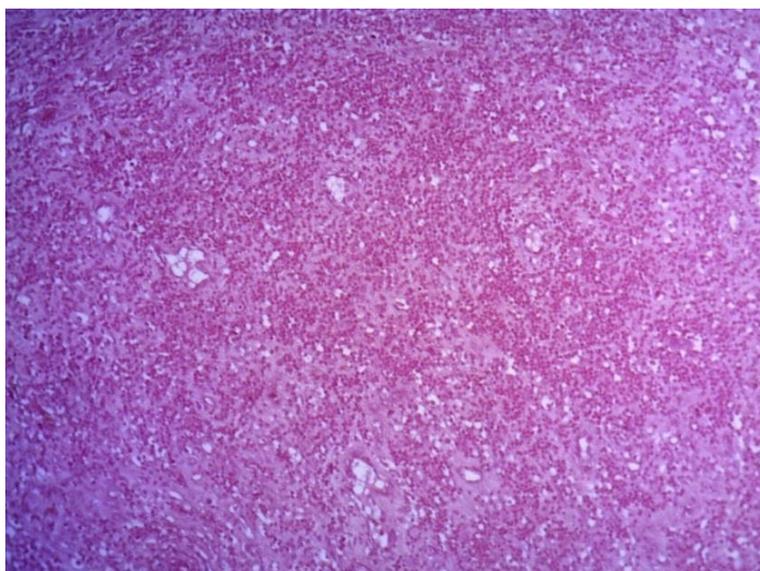


Рисунок 10. Срез грудины с нанесенным материалом группы «ВОСК». Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x100

### 3.3 Анализ антибактериальной активности ОЦ-В и аптечного ванкомицина в условиях *in vitro*

#### 3.3.1 Определение чувствительности *S. aureus*, *E. faecium* к исследуемым препаратам

Результаты испытания действия препаратов на патогенные бактерии *S. aureus*, *E. faecium* при культивировании в жидкой питательной среде представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5

Титр тест-штамма *S. aureus* в зависимости от концентрации добавляемых препаратов (18 часов совместного инкубирования)

Концентрация препарата, %	Препарат, КОЕ/мл	
	Ванкомицин	ОЦ-В
0%	$3,5 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$
25%	$1,0 \times 10^5$	$9,6 \times 10^4$
50%	$1,0 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4$
100%	$9,0 \times 10^3$	$9,3 \times 10^3$

Численность жизнеспособных клеток штамма *S. aureus* в варианте без добавления антибиотиков через 18 часов роста достигала титра  $3,5 \times 10^9$  КОЕ/мл. Титр клеток штамма в опытных вариантах в сравнении с контролем был значительно снижен, составлял при дозе аптечного ванкомицина и ОЦ-В 25 мкг/мл близкие величины -  $1,0 \times 10^5$  и  $9,6 \times 10^4$  КОЕ/мл, соответственно. С увеличением концентрации препаратов, добавляемых в среду культивирования, разница в титрах клеток штамма *S. aureus* в опытных вариантах относительно контроля составляет в среднем 5-6 порядков. В вариантах с добавлением ОЦ-В численность клеток штамма *S. aureus* несколько выше, чем в вариантах с аптечным ванкомицином, но в целом эффективность действия обоих вариантов сравнима. Уменьшение титра клеток свидетельствует о чувствительности микроорганизма к исследуемым препаратам.

Таблица 6

Титр тест-штамма *E. faecium* в зависимости от концентрации добавляемых препаратов

Концентрация препарата, %	Препарат, КОЕ/мл	
	Ванкомицин	ОЦ-В
0%	$2,4 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$
25%	$1,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5$
50%	$7,0 \times 10^5$	$9,0 \times 10^5$
100%	$7,3 \times 10^5$	$8,0 \times 10^5$

В таблице 6 титр штамма *E. faecium* в опытных вариантах, в сравнении с контролем без антибиотиков, где среднее КОЕ составляло  $2,4 \times 10^7$  кл/мл, при культивировании в присутствии указанных концентраций препаратов снижался на 1-2 порядка. Полученные результаты соответствуют литературным данным, свидетельствующим о низком бактериостатическом действии ванкомицина относительно патогенных бактерий вида *E. faecium*.

Результаты испытания действия препаратов на патогенные бактерии *S. aureus*, *E. faecium* при высеве на агаризованную среду, определяемые методом «колодцев», представлены в таблице 7.

Таблица 7

Диаметр зон подавления роста тест-штаммов *S. aureus* и *E. faecium* в зависимости от концентрации добавляемых препаратов

Концентрация препарата, %	Штамм / препарат / диаметр зон подавления роста, мм*			
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecium</i>	
	Ванкомицин	ОЦ-В	Ванкомицин	ОЦ-В
25	22±5	20±4	15±1 сл	12±2 сл
50	26±6	24±3	15±2 сл	14±2 сл
100	26±2	24±2	18±1 сл	16±1 сл

Обозначения: сл – слабо выраженное угнетение роста культуры

\*пограничное значение диаметра зоны подавления роста для *S. aureus*  $\geq 15$  мм

пограничное значение диаметра зоны подавления роста для *E. faecium*  $\geq 17$  мм

Штаммы отличались по чувствительности к используемым антибиотикам. Относительно штамма *E. faecium*, так же, как и в опыте при культивировании в жидкой питательной среде, наблюдалось бактериостатическое слабо выраженное действие обоих вариантов антибиотиков (мутные зоны с нечетким краем), в случае *S. aureus* их действие было литическим (полный лизис газона в зоне диффузии антибиотиков, край зоны четко очерчен). В ряде вариантов зоны лизиса при использовании ОЦ-В были меньше, чем в вариантах с аптечным ванкомицином при одинаковой расчетной концентрации. Этот факт может быть объяснен несоответствием расчетной концентрации антибиотика полученной его концентрации в используемом рабочем растворе, возможно, заниженной в результате остаточной сорбции на нерастворимом компоненте препарата ОЦ-В.

### 3.3.2 Определение чувствительности MRSE и MRSA к исследуемым препаратам

Для испытания действия исследуемых препаратов на полирезистентные патогенные бактерии MRSE и MRSA при культивировании в жидкой питательной среде (24 часа инкубирования при температуре 37°C) использовали концентрацию препаратов в питательной среде 25, 50 и 100 мкг/мл. Результаты представлены в таблицах 8 и 9.

Таблица 8

Титр клеток тест-штамма MRSE при культивировании в жидкой среде в зависимости от концентрации добавляемых препаратов

Концентрация препарата, %	Препарат, КОЕ/мл	
	Ванкомицин	ОЦ-В
0%	$3,3 \times 10^9$	$3,3 \times 10^9$
25%	$1,5 \times 10^4$	$5,7 \times 10^4$
50%	$3,3 \times 10^3$	$1,8 \times 10^4$
100%	$2,6 \times 10^3$	$4,8 \times 10^3$

Титр клеток штамма MRSE в контроле без антибиотиков составлял в среднем  $3,3 \times 10^9$  КОЕ/мл. При добавлении антибиотиков 25 мкг/мл в опытных вариантах титр клеток снижался в варианте с аптечным ванкомицином в среднем до  $1,5 \times 10^4$ , в варианте с ОЦ-В – до  $5,7 \times 10^4$  КОЕ/мл. При применении в среде культивирования концентрации аптечного ванкомицина и ОЦ-В 100 мкг/мл численность клеток снижалась еще примерно на порядок и составляла близкие величины для обоих вариантов, в среднем  $2,6 \times 10^3$  КОЕ/мл и  $4,8 \times 10^3$  КОЕ/мл, соответственно. Уменьшение титра клеток свидетельствует о чувствительности микроорганизма к исследуемым препаратам.

Полирезистентный тест-штамм MRSA был также подвержен антибиотическому действию исследуемых препаратов (табл. 9).

Таблица 9

Титр тест-штамма MRSA при культивировании в жидкой среде в зависимости от концентрации добавляемых препаратов

Концентрация препарата, %	Препарат, КОЕ/мл	
	Ванкомицин	ОЦ-В
0%	$4,6 \times 10^9$	$4,6 \times 10^9$
25%	$9,3 \times 10^4$	$8,0 \times 10^4$
50%	$3,7 \times 10^4$	$3,0 \times 10^5$
100%	$2,1 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$

В контроле без антибиотиков численность жизнеспособных клеток штамма MRSA составляла в среднем  $4,6 \times 10^9$  КОЕ/мл, в то время как в опытных вариантах с добавлением антибиотиков она была значительно ниже: от  $2,1 \times 10^4$  КОЕ/мл при использовании аптечного ванкомицина до  $1,3 \times 10^5$  КОЕ/мл при использовании ОЦ-В, причем прямой зависимости численности клеток от концентрации антибиотиков в среде не наблюдали.

Причиной различия наблюдаемых титров и их некоторая численная непоследовательность может быть также характерная морфология клеток стафилококков, образующих скопления, где многие клетки находятся в

цепочках. Попадая на агар, цепочка клеток, их скопления и клетки одиночные дают начало в каждом случае одной колонии и будут посчитаны как отдельные единичные КОЕ, занижая тем самым численность клеток в культуральной жидкости.

Результаты испытания действия препаратов на патогенные бактерии MRSE и MRSA при высеве на агаризованную среду, определяемые методом «колодцев», представлены в таблице 10.

Таблица 10

Диаметр зон подавления роста тест-штаммов MRSE и MRSA в зависимости от концентрации добавляемых препаратов

Концентрация препарата, %	Штамм / препарат / диаметр зон подавления роста, мм*			
	MRSE		MRSA	
	Ванкомицин	ОЦ-В	Ванкомицин	ОЦ-В
5	21±3	22±3	20±3	20±2
10	25±4	25±4	23±2	22±3
25	28±3	27±4	25±4	23±2
50	30±3	28±5	25±4	27±2
100	32±5	32±3	26±3	27±3

Обозначения:

\* пограничное значение диаметра зоны подавления роста для MRSE  $\geq 15$  мм  
пограничное значение диаметра зоны подавления роста для MRSA  $\geq 15$  мм

В условиях данного опыта все примененные растворы исследуемых препаратов (в концентрации 100, 50, 25, 10 и 5 мкг/мл) эффективно подавляли рост патогенных полирезистентных штаммов MRSE и MRSA сходным образом, проявляя четко выраженное литическое действие, эффективность которого увеличивалась по мере повышения концентрации препаратов в питательной среде (табл. 10).

### 3.3.3 Определение чувствительности полирезистентных штаммов

#### *S. pyogenes* и *S. pneumoniae* к исследуемым препаратам

Для испытания действия препаратов на патогенные бактерии *S. pyogenes* и *S. pneumoniae* при культивировании в жидкой среде использовали препараты с концентрацией 25, 50 и 100 мкг/мл. Результаты представлены в таблице 11.

Таблица 11

Титр тест-штаммов *S. pyogenes* и *S. pneumoniae* при культивировании в жидкой среде в зависимости от концентрации добавляемых препаратов

Концентрация препарата, %	Штамм, препарат, КОЕ/мл			
	<i>S. pyogenes</i>		<i>S. pneumoniae</i>	
	Ванкомицин	ОЦ-В	Ванкомицин	ОЦ-В
0%	$2,7 \times 10^9$	$2,7 \times 10^9$	$3,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$
25%	$4,4 \times 10^4$	$9,6 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$
50%	$6,0 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$
100%	$8,7 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$

Титр жизнеспособных клеток в контрольных суспензиях без антибиотиков составлял для штамма *S. pyogenes* –  $2,7 \times 10^9$  КОЕ/мл., а для штамма *S. pneumoniae* –  $3,0 \times 10^8$  КОЕ/мл.

При добавлении исследуемых препаратов титр жизнеспособных клеток штамма *S. pyogenes* при дозе ОЦ-В и аптечного ванкомицина 50 мкг/мл снижался на 5 порядков, и был несколько ниже при дозе 100 мкг/мл. В варианте со штаммом *S. pneumoniae* титр клеток снижался до  $1,6 \times 10^4$  и  $1,4 \times 10^4$  КОЕ/мл, соответственно.

Заметной зависимости титра штаммов *S. pneumoniae* и *S. pyogenes* от концентраций препаратов, используемых в опыте, не отмечено. Не наблюдалось также существенной разницы между действием исследуемых препаратов. Однако добавление и ОЦ-В и аптечного ванкомицина показало сходное значительное снижение численности жизнеспособных клеток.

Возможно, сходный титр клеток в опытных суспензиях при добавлении в среду разных концентраций препаратов, можно объяснить сохранением в культуральной жидкости некоторого количества жизнеспособных неделящихся клеток, на которые ванкомицин не действует, ввиду его способности разрушать именно растущие делящиеся клетки в стадии формирования клеточной стенки и дальнейшее повышение концентрации антибиотика в среде неэффективно. Наличие некоторой разницы в титрах жизнеспособных клеток, в ряде вариантов десятикратной, при использовании одинаковых концентраций исследуемых препаратов, может быть объяснено также возможным несоответствием расчетной концентрации ОЦ-В его полученной концентрации в используемом рабочем растворе, возможно, в результате остаточной сорбции на нерастворимом компоненте препарата ОЦ-В.

Результаты испытания действия препаратов на патогенные бактерии *S. pyogenes* и *S. pneumoniae* при высеве на агаризованную среду, определяемые методом «колодцев», представлены в таблице 12.

Таблица 12

Диаметр зон подавления роста тест-штаммов *S. pyogenes* и *S. pneumoniae* в зависимости от концентрации добавляемых препаратов

Концентрация препарата, %	Штамм / препарат / диаметр зон подавления роста, мм*			
	<i>S. pyogenes</i>		<i>S. pneumoniae</i>	
	Ванкомицин	ОЦ-В	Ванкомицин	ОЦ-В
25	25±1	24±1	28±4	26±3
50	26±2	25±1	30±3	28±3
100	28±1	27±2	32±3	29±4

Обозначения:

\*допустимый диапазон диаметра зон подавления роста для *S. pyogenes* ≥ 17 мм

допустимый диапазон диаметра зон подавления роста для *S. pneumoniae* ≥ 17 мм

Наиболее чувствительным к исследуемым препаратам был штамм *S. pneumoniae*, зоны лизиса достигали 35 мм. Штамм *S. pyogenes* проявил

несколько меньшую, сходную меж собой чувствительность к испытуемым препаратам (табл. 12).

### 3.4 Анализ регенерации костной ткани после остеосинтеза грудины

При анализе регенерации костной ткани оценивали степень формирования костных балок (слабая, умеренная, выраженная), количество фибробластов (малое, умеренное, большое) и количество сосудов в межбалочном пространстве (малое, умеренное, большое).

#### 3.4.1 Оценка степени формирования костных балок

При сравнении двух групп установлено, что в группе «ОЦ-В» в большинстве случаев обнаружена выраженная степень формирования костных балок, а в группе «ВОСК» - слабая. Однако при составлении таблицы сопряженности статистически значимой разницы между группами получено не было ( $p = 0,068$ ) (таб. 13).

Таблица 13

Распределение степени формирования костных балок в группах

Группы сравнения	Степень формирования костных балок			Точный тест Фишера
	слабая	умеренная	выраженная	
<b>ОЦ-В</b>	1	2	7	p = 0.068
<b>ВОСК</b>	6	1	3	

Гистологические микрофотографии срезов грудины представлены на рисунке 11 и рисунке 12.

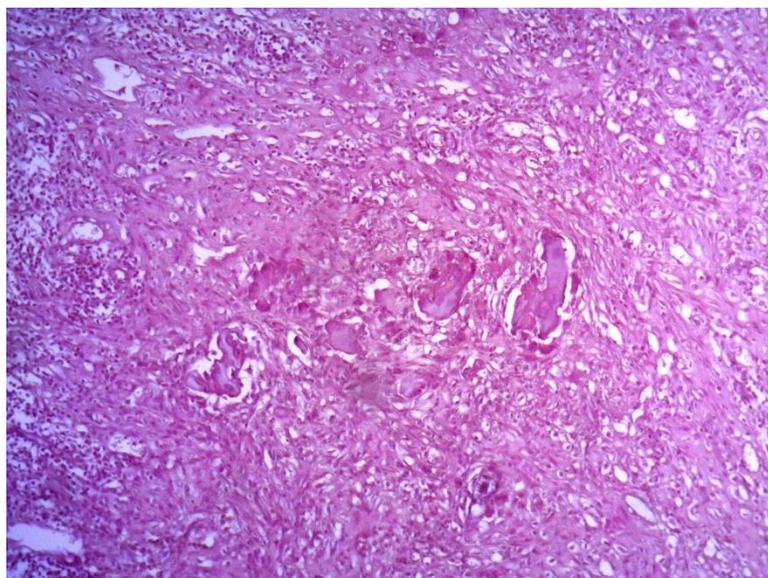


Рисунок 11. Срез грудины с нанесенным материалом группы «ОЦ-В». Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x100

На рисунке 11 представлен фрагмент фиброзной ткани после нанесения материала ОЦ-В с выраженным формированием костных балок.

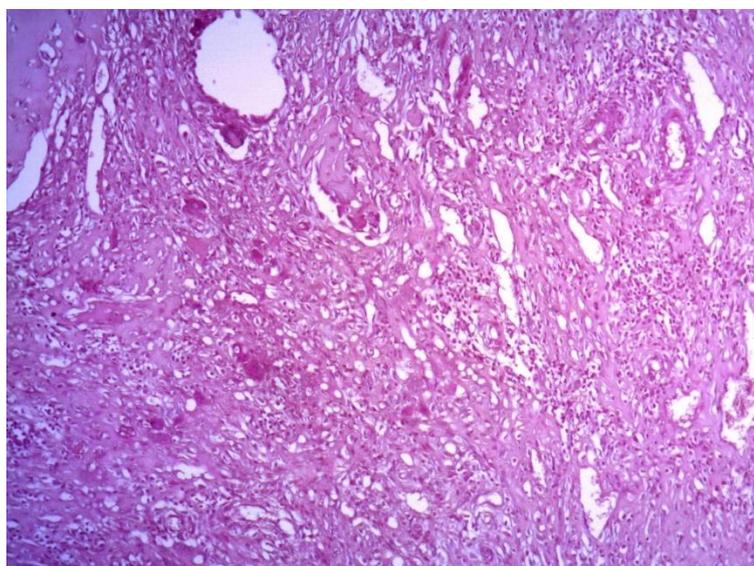


Рисунок 12. Срез грудины с нанесенным материалом группы «ВОСК». Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x100

На рисунке 12 представлен фрагмент фиброзной ткани с нанесенным костным воском со слабым формированием костных балок.

### 3.4.2 Оценка количества фибробластов

При сравнении двух групп по количеству фибробластов (малое, умеренное, большое) статистически значимого различия получено не было ( $p=0,395$ ) (таб. 14). Гистологические микрофотографии срезов грудины представлены на рисунке 13 и рисунке 14.

Таблица 14

Распределение количества фибробластов в группах

Группы сравнения	Количество фибробластов			Точный тест Фишера
	малое	умеренное	большое	
<b>ОЦ-В</b>	3	5	2	p = 0.395
<b>ВОСК</b>	6	2	2	

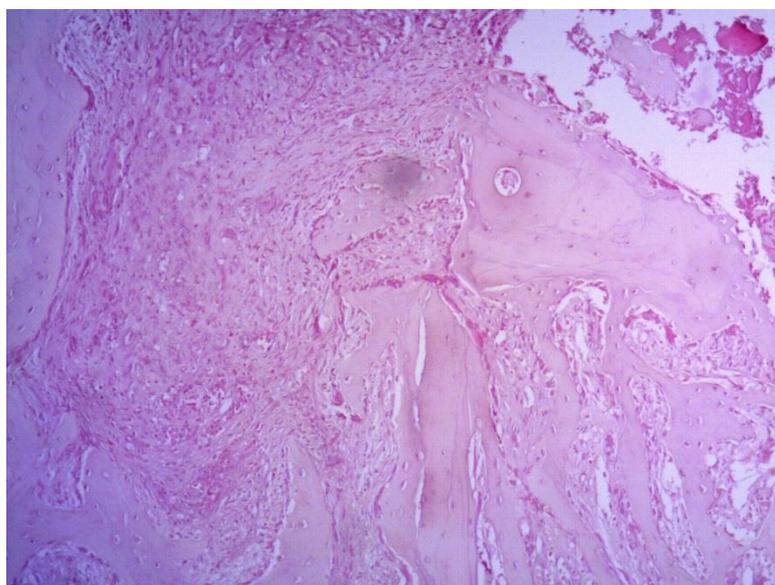


Рисунок 13. Срез грудины с нанесенным материалом группы «ОЦ-В». Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x100

На рисунке 13 – гистологическая микрофотография среза грудины с нанесенным материалом ОЦ-В. На представленной микрофотографии формирующаяся костная ткань с выраженной фибробластической активностью в межбалочных пространствах.

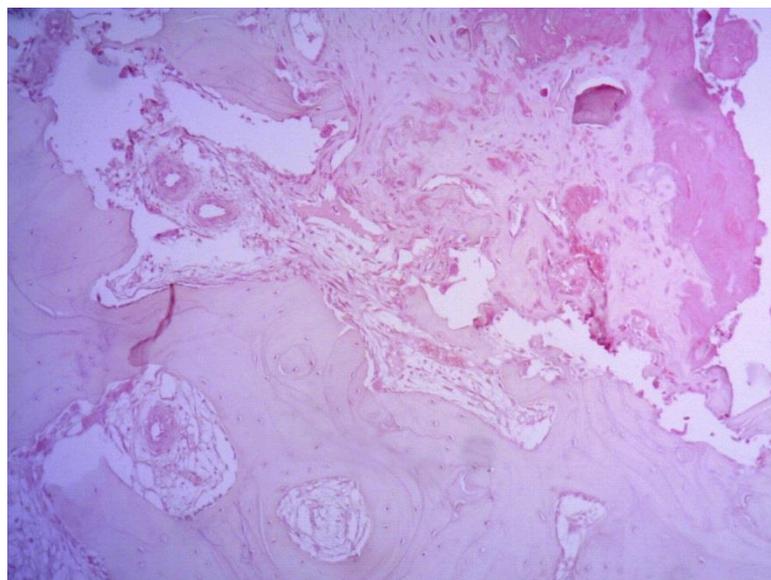


Рисунок 14. Срез грудины с нанесенным материалом группы «ВОСК». Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x100

На рисунке 14 представлена формирующаяся костная ткань после нанесения костного воска с малым количеством фибробластов.

### 3.4.3 Оценка количества сосудов в межбалочном пространстве

При сравнении двух групп по количеству сосудов в межбалочном пространстве (малое, умеренное, большое), согласно точному тесту Фишера, статистически значимого различия также получено не было ( $p=0,554$ ). Полученные данные представлены в таблице 15. Гистологические микрофотографии срезов грудины представлены на рисунке 15 и рисунке 16.

Таблица 15  
Распределение количества сосудов в межбалочном пространстве в группах

Группы сравнения	Количество сосудов в межбалочном пространстве			Точный тест Фишера
	малое	умеренное	большое	
<b>ОЦ-В</b>	4	4	2	p = 0.554
<b>ВОСК</b>	6	4	0	

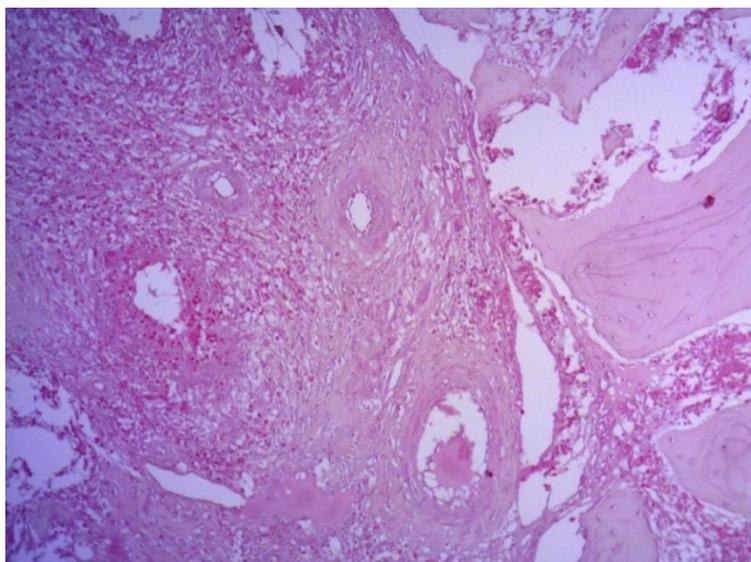


Рисунок 15. Срез грудины с нанесенным материалом группы «ОЦ-В». Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x100

На рисунке 15 представлен фрагмент фиброзной ткани межбалочного пространства с большим количеством сосудов емкостного и артериального типа.

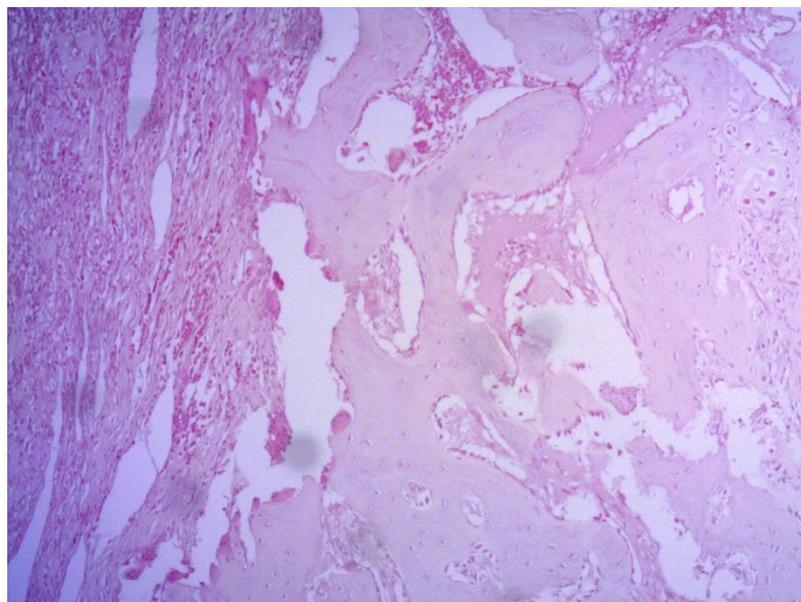


Рисунок 16. Срез грудины с нанесенным материалом группы «ВОСК». Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x100

На рисунке 16 представлен фрагмент фиброзной ткани межбалочного пространства с малым количеством сосудов преимущественно емкостного типа.

### 3.5 Резюме

В результате проведенных экспериментов установлено, что использование гемостатического средства «ОЦ-В» в условиях полной гепаринизации достоверно снижает объем интраоперационной кровопотери из губчатого вещества грудины после стернотомии в сравнении с костным воском. Использование материала ОЦ-В не вызывает локальных (клинических и гистологических) признаков воспаления грудины и не оказывает отрицательного влияния на регенерацию костной ткани через 3 недели после операции. Антимикробное действие ОЦ-В сходно по проявленной специфической фармакологической активности с аптечным ванкомицином.

## ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Актуальность данного исследования подтверждается тем, что диффузное интраоперационное кровотечение и внутрибольничная инфекция в послеоперационном периоде – важные и обсуждаемые проблемы кардиохирургии [17,130-133]. Быстрая остановка кровотечения приводит к сокращению времени проведения операции, улучшению её результатов, снижению риска возникновения осложнений и значительному уменьшению послеоперационных расходов [69]. Существующие на сегодняшний день методы борьбы с кровотечением имеют ряд существенных недостатков. Так, избыточная диатермоэлектрокоагуляция приводит к ожогу тканей [134], системное переливание компонентов крови может сопровождаться инфекционными и иммунными осложнениями [135], а местные кровоостанавливающие средства, ввиду отсутствия универсальности, не в полном объеме удовлетворяют требованиям хирургов и могут сопровождаться побочными эффектами. Так, например, гемостатические материалы на основе фибрина, ввиду своего животного происхождения, могут привести к возникновению анафилактической реакции на их использование [80]. Так же в литературе описаны случаи эмболии альбумин-содержащих гемостатических материалов при их использовании, что в итоге приводило к обширным инфарктам миокарда [73] и острой ишемии нижних конечностей [74]. Побочные эффекты от воздействия гемостатических материалов на основе коллагена включают в себя аллергические реакции, образование спаек и ингибирование заживления послеоперационных ран [67].

Среди большого разнообразия местных гемостатических материалов наиболее часто в сердечно-сосудистой хирургии используются костный воск и средства на основе окисленной целлюлозы.

Широкое применение костного воска в кардиохирургии обусловлено целым рядом значимых факторов [15]. При нанесении на губчатое вещество грудины костный воск образует почти непроницаемый гемостатический

барьер, обеспечивая при этом быстрый и эффективный гемостаз [45]. Не менее удобной является консистенция воска, позволяющая легко наносить этот гемостатический материал на губчатое вещество кости. И, несмотря на возникающие осложнения, костный воск продолжает использоваться в клинической практике на протяжении многих лет во всем мире из-за простого способа применения, эффективности, дешевизны и отсутствия альтернативных недорогих кровоостанавливающих средств [141].

Растительное происхождение и возможность резорбции материала на основе ОЦ позволяет избежать таких осложнений, как аллергическая реакция, ингибирование заживления послеоперационной раны и др. Механизм действия гемостатиков на основе ОЦ является сочетанием адсорбции и физиологического гемостаза и заключается в: 1) поглощении плазмы за счет высокой гигроскопичности материала; 2) способствовании образования тромбина за счет отрицательно заряженной поверхности ОЦ [92]; 3) значительном усилении действия VIII и XII факторов свертывающей системы крови [89]. Применение гемостатических средств на основе окисленной целлюлозы в различных областях хирургии подробно описано в литературе [105,137].

Наряду с проблемой остановки диффузных кровотечений, не менее остро стоит проблема профилактики внутрибольничных инфекций. Увеличение числа гнойных осложнений в послеоперационном периоде у больных после плановых хирургических вмешательств, снижение эффективности традиционно используемых антибактериальных препаратов свидетельствуют о нерешенности многих ключевых вопросов гнойной инфекции [138]. Риск присоединения инфекции значительно повышается при использовании имплантируемых устройств медицинского назначения, таких как внутривенные и артериальные катетеры, материалы для остеосинтеза, протезы и другие изделия, которые создают входные ворота для патогенной флоры во время контакта с тканями и жидкостями организма. Не менее актуальной является проблема реинфицирования раневых поверхностей госпитальными

штаммами с рук медицинского персонала, постельного белья, шовного и перевязочного материалов в группах больных в отделениях интенсивной терапии и др. В условиях строгого контроля за внутрибольничной инфекцией гнойные осложнения в области хирургического доступа регистрируются в 33–38% случаев [130], что увеличивает сроки пребывания в стационаре на 15–18 дней [139,140]. Около 90% всех внутрибольничных инфекций имеют бактериальное происхождение. Все большую роль в этиологии играют грамположительные бактерии, а именно стафилококки, которые встречаются в 60% случаев всех внутрибольничных инфекций. Важной проблемой также является рост устойчивых штаммов микроорганизмов – возбудителей внутрибольничных инфекций, таких как MRSA, MRSE, энтерококки, резистентные к ампициллину и аминогликозидам (гентамицину), антибиотикорезистентный пневмококк, в отношении которых сохраняют активность ограниченное количество антибиотиков.

Решение проблемы диффузных кровотечений и присоединения внутрибольничной инфекции в послеоперационном периоде состоит в разработке универсальных, полифункциональных средств, применяемых во время операции, обладающих как кровоостанавливающими, так и антибактериальными свойствами.

Данное пилотное экспериментальное исследование посвящено изучению эффективности действия нового местного гемостатического ванкомицин-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы. Были изучены его гемостатические, антибактериальные свойства, а также воздействие на регенерацию костной ткани после его применения. Полученные результаты были сравнены с результатами исследования костного воска.

В проведенных экспериментах для сравнения гемостатической эффективности оценивали объем интраоперационной кровопотери из губчатого вещества грудины после срединной стернотомии в условиях полной гепаринизации (АСТ>500) в течение 1 часа. Было установлено, что применение разработанного средства ОЦ-В позволяет достоверно снизить

объем кровопотери из губчатого вещества грудины лабораторного животного в сравнении с костным воском. При взвешивании салфеток, пропитанных кровью из грудины, установлено, при использовании ОЦ-В медиана объема кровопотери в течение 1 часа составила 6,95 [1,57; 8,1] мл, а при использовании костного воска – 12,79 [12,36; 13,68] мл ( $p < 0,001$ ).

В литературе имеются данные о том, что гемостатическое действие костного воска не имеет никакой ни биологической, ни химической основы: оно в основном связано с его физическим блокированием отверстий в губчатом веществе кости [141]. В то время, как механизм гемостаза ОЦ-В обусловлен выраженной гигроскопичностью порошка [14] и влиянием ОЦ на активацию внешнего и внутреннего пути свертывания крови [13], что может объяснить полученную разницу в объеме интраоперационной кровопотери в эксперименте.

Некоторые авторы вообще не поддерживают мнение о том, что использование костного воска снижает объем периперационной кровопотери. Так, Prziborowski J. с соавт. (2008 г.) доказали, что использование костного воска не уменьшает потребности в гемотрансфузии у пациентов, перенесших коронарное шунтирование ( $p > 0,05$ ) [141]. Robicsek F. с соавт. (1981 г.) сообщают о ретроспективном исследовании с участием 400 пациентов, перенесших стернотомию. При этом, отказ от костного воска не увеличил дренажные потери и не потребовал реторакотомий [54]. Подобные разногласия и увеличивающееся количество сообщений о нежелательных явлениях после использования костного воска говорят о необходимости и актуальности новых разработок в области местного гемостаза.

Одними из вторичных конечных точек исследования были оценка клинических и гистологических признаков воспаления. Несмотря на то, что в течение трех недель после операции клинических признаков воспаления ни в одной из групп обнаружено не было, при гистологической оценке срезов грудины выраженная воспалительная инфильтрация достоверно чаще встречалась в группе с использованием костного воска, чем в группе ОЦ-В

( $p=0,02$ ). Вышеизложенные данные могут говорить о том, что использование гемостатического материала ОЦ-В не вызывает локальных (клинических и гистологических) признаков воспаления, в отличие от костного воска. Полученные нами данные подтверждают Vestergaard R.F. с соавт. (2015 г.). В своем экспериментальном исследовании авторы обнаружили, что использование костного воска в качестве кровоостанавливающего средства после стернотомии у мини-свиней вызывает хроническое воспаление, тем самым препятствуя заживлению грудины [142]. Подобные результаты были подтверждены не только экспериментом. Так, по данным Alhan C. с соавт. (2014 г.), исследовавших 5318 пациентов, которым выполняли кардиохирургическое вмешательство, нестабильность грудины встречалась в 2,5% случаев при использовании костного воска, против 1,4% случаев без него ( $p=0,001$ ) [140]. Также целым рядом авторов сообщается, что использование костного воска кроме аллергических реакций [69], приводит к образованию свищей [143], абсцессов [144], гранулем [145,146], увеличивает риск инфицирования раны [69]. В нашем исследовании вышеописанных осложнений обнаружено не было. Скорее всего это связано с тем, что выбранная хирургическая модель – мини-свинья не подвергалась иммуносупрессии: важную роль сыграло отсутствие искусственного кровообращения в эксперименте. Учитывая все вышеизложенное и тот факт, нестабильность грудины после операции в значительной степени провоцирует развитие медиастинита [38-40], хроническое воспаление грудины, инициированное использованием костного воска, запускает целый каскад осложнений, приводящий к серьезным неблагоприятным последствиям.

На сегодняшний день в литературе имеются достаточно противоречивые данные о результатах местного применения антибиотика ванкомицина при срединной стернотомии. Так, Базылев В.В. с соавт. (2015 г.) сообщают о результатах ретроспективного исследования, в которое были включены 1593 пациента: в первой группе ( $n=951$ ) выполняли профилактику стернальной инфекции по методике P.Vogt; во второй группе ( $n=642$ ) также использовали

данную методику, но за исключением местного применения антибиотиков. В результате проведенного исследования установлено, что исключение местного использования антибиотиков не приводит к росту частоты развития раневых осложнений ( $p=0,78$ ) и нормализует соотношение грамотрицательных и грамположительных штаммов [147]. В свою очередь, Кузнецов М.С. с соавт. (2016 г.) в своем исследовании 216 пациентов разделили на 3 группы: 1-я группа включала 76 пациентов, прооперированных по стандартному кардиохирургическому алгоритму; 2-ю группу составили 68 пациентов, прооперированных с использованием методики элиминации стеральной инфекции, предложенной Р. Vogt; 3-ю группу составили 72 пациента, частично оперированных по методике Р. Vogt. При этом важным этапом методики Р. Vogt являлось нанесение перед сведением краев грудины на ее губчатое вещество пасты на основе антибиотика (ванкомицин 3 г смешивают с 2-4 мл 0,9% NaCl до консистенции замазки). В результате проведенного исследования количество случаев поверхностной раневой инфекции, подтвержденной лабораторно составило: в 1-ой группе - 4 (5,2%) пациента, во 2-й и в 3-й группах ни одного случая не зарегистрировано. Количество случаев глубокой стеральной инфекции: 1-я группа - 1 (1,3%) пациент, во 2-й и в 3-й группах случаев глубокой стеральной инфекции не выявлено. В 1-й группе выполнено 8 (10,5%) реостеосинтезов, во 2-й - 1 реостеосинтез. Методика элиминации стеральной инфекции, разработанная и предложенная Р. Vogt, позволяет сократить количество инфекционных осложнений с 6,5 до 0% [148]. Полученные данные совпадают с результатами исследований зарубежных коллег. Так, Lazar H.L. с соавт. (2014 г.), исследовали 1075 последовательных пациентов, перенесших операции на сердце и получавших местно ванкомицин (2,5 г в 2 мл физиологического раствора наносили в виде суспензии на края грудины) в сравнении с 2190 пациентами, которые не получали ванкомицин. Установлено, что пациентов, получавших местно ванкомицин, реже встречалась поверхностная стеральная инфекция (0% против 1,6%, ( $p<0,0001$ )), глубокая стеральная

инфекция (0% против 0,7%,  $p=0,005$ ), любой тип инфекции грудины (0% против 2,2%;  $p<0,0001$ ) и значительно реже стерильная инфекция любого типа у больных сахарным диабетом (0% против 3,3%,  $p=0,0004$ ) [149]. Не менее важными являются результаты исследования Шихвердиева Н.Н. с соавт. (2015 г.): ученые оценивали влияние местного применения ванкомицина (4 г сухого вещества антибиотика и 0,9% NaCl) на функцию печени и почек у кардиохирургических пациентов. Установлено, что местное применение ванкомицина в послеоперационном периоде не привело к статистически значимому повышению аланинаминотрансферазы ( $p=0,875$ ), аспартатаминотрансферазы ( $p=0,161$ ) и креатинина ( $p=0,192$ ) в плазме крови. При применении ванкомицина местно в ране при кардиохирургических операциях функция почек и печени не нарушалась [150].

Для оценки влияния исследуемых гемостатиков на регенерацию костной ткани в качестве вторичных конечных точек в проведенном исследовании были использованы степень формирования костных балок (слабая, умеренная и выраженная), количество фибробластов (малое, умеренное и большое) и количество сосудов в межбалочном пространстве (малое, умеренное и большое).

Выбор вышеописанных конечных точек объясняется тем, что одним из важных параметров оценки течения остеогенеза губчатых костей, каковой является грудина, являются динамика и интенсивность образования костных балок [151]. Костные балки – это участки губчатого вещества костной ткани, содержащие все три типа костных клеток: остеобласты, остеокласты и остециты, которые образуются на этапе минерализации клеточного вещества в процессе остеогенеза. Выраженность формирования данных структур говорит о том, как проходит процесс регенерации костной ткани. В нашем исследовании, при гистологической оценке операционного материала (грудины) была обнаружена следующая тенденция: использование нового гемостатического материала ОЦ-В в большей степени чем костный воск инициирует формирование костных балок: в группе ОЦ-В чаще встречалась

выраженная степень формирования (7 случаев против 3 в группе «Костный воск»), а в группе с использованием костного воска – слабая (6 случаев против 1 в группе «ОЦ-В»). Но полученные данные не были подтверждены статистически ( $p=0,068$ ). Однако по данным целого ряда проведенных исследований костный воск подавляет активность остеобластов, ухудшая, тем самым, заживление грудины [69,152-157]. В исследовании Alhan C. с соавт. (2014 г.), диастаз грудины у пациентов с костным воском встречался в два раза чаще, чем без него. Кроме того, авторами костный воск был определен как независимый фактор риска возникновения послеоперационной нестабильности грудины [140].

Следующей конечной точкой была гистологическая оценка количества фибробластов (малое, умеренное и большое). По данным литературы от величины данного показателя зависит скорость регенерации кости [158]. В нашем исследовании при оценке количества фибробластов между группами с использованием ОЦ-В и костного воска не обнаружено статистически значимого различия ( $p=0,395$ ).

Не менее важным условием для формирования костной ткани является активная, не обедненная сеть кровеносных сосудов в межбалочном пространстве, обеспечивающих оптимальную васкуляризацию кости [159]. При оценке количества сосудов в межбалочном пространстве между группами не обнаружено статистически значимого различия ( $p=0,554$ ). Однако также, как и в случае с оценкой степени выраженности формирования костных балок, при оценке количества сосудов в межбалочном пространстве мы обнаружили следующую тенденцию: в группе с использованием материала ОЦ-В большое количество сосудов встречалось в 20% случаев, в отличие от группы с использованием костного воска, где в подавляющем большинстве случаев было обнаружено малое количество сосудов в межбалочном пространстве (60%).

Несмотря на отсутствие статистически значимых различий при оценке показателей регенерации костной ткани, при использовании гемостатического

материала ОЦ-В были обнаружены положительные тенденции, позволяющие полагать, что применение нового гемостатического материала не оказывает отрицательного влияния на регенерацию костной ткани. Увеличение объема выборки возможно позволит получить статически значимую разницу и говорить о положительном воздействии материала ОЦ-В на остеогенез.

### **Резюме**

Результаты, полученные в этом пилотном экспериментальном исследовании важны, так как они демонстрируют эффективность действия и перспективность нового местного гемостатического ванкомицин-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы и позволяют рекомендовать ОЦ-В к полноразмерным доклиническим и клиническим исследованиям.

## ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

К ограничениям исследования относится недостаточный размер сравниваемых групп «ВОСК» и «ОЦ-В» для определения наличия или отсутствия разницы в:

- степени формирования костных балок;
- количестве сосудов в межбалочном пространстве;
- количестве фибробластов.

## ВЫВОДЫ

1. В условиях полной гепаринизации (АСТ>500) применение материала ОЦ-В позволяет достоверно снизить объем кровопотери из губчатого вещества грудины лабораторного животного по сравнению с костным воском
2. Использование материала ОЦ-В для остановки кровотечения из губчатого вещества грудины не вызывает локального воспаления грудины
3. Антимикробное действие ОЦ-В сходно по проявленной специфической фармакологической активности с аптечным ванкомицином
4. При гистологическом исследовании грудины обнаружено, что применение материала ОЦ-В на грудине в качестве гемостатического агента не оказывает отрицательного влияния на регенерацию костной ткани

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Christensen M.C., Dziewior, F., Kempel, A., et al. Increased chest tube drainage is independently associated with adverse outcome after cardiac surgery //Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2012. – Т. 26. – №. 1. – С. 46-51.
2. Christensen M.C., Krapf S., Kempel A., et al. Costs of excessive postoperative hemorrhage in cardiac surgery //The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2009. – Т. 138. – №. 3. – С. 687-693.
3. Glance L.G., Dick, A.W., Mukamel, D.B., et al. Association between intraoperative blood transfusion and mortality and morbidity in patients undergoing noncardiac surgery //Survey of Anesthesiology. – 2011. – Т. 55. – №. 6. – С. 288-289.
4. Stokes M.E., Ye X., Shah M., et al. Impact of bleeding-related complications and/or blood product transfusions on hospital costs in inpatient surgical patients //BMC health services research. – 2011. – Т. 11. – №. 1. – С. 135.
5. Görlinger K., Shore-Lesserson, L., Dirkmann, D., et al. Management of hemorrhage in cardiothoracic surgery //Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2013. – Т. 27. – №. 4. – С. 20-34.
6. Wellisz T. et al. The effects of a soluble polymer and bone wax on sternal healing in an animal model //The Annals of thoracic surgery. – 2008. – Т. 85. – №. 5. – С. 1776-1780.
7. Cimochoowski G. E. et al. Intranasal mupirocin reduces sternal wound infection after open heart surgery in diabetics and nondiabetics //The Annals of thoracic surgery. – 2001. – Т. 71. – №. 5. – С. 1572-1579.
8. Tam T., Harkins G., et al. Oxidized Regenerated Cellulose Resembling Vaginal Cuff Abscess // JSLS: Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons. – 2014. – Т. 18. – №. 2. – С. 353.
9. Agarwal M.M., Mandal A.K., Agarwal S., et al. Surgicel granuloma: unusual cause of “recurrent” mass lesion after laparoscopic nephron-sparing surgery for renal cell carcinoma // Urology. – 2010. – Т. 76. – №. 2. – С. 334-335.

10. Tefik T., Sanli O., et al. Oxidized regenerated cellulose granuloma mimicking recurrent mass lesion after laparoscopic nephron sparing surgery //International journal of surgery case reports. – 2012. – Т. 3. – №. 6. – С. 227-230.
11. Behbehani S., Tulandi T. Oxidized regenerated cellulose imitating pelvic abscess //Obstetrics & Gynecology. – 2013. – Т. 121. – С. 447-449.
12. Al-Shaikh S., Muddaia, A., Lee R.J., et al. Oxidised cellulose powder for haemostasis following sinus surgery: a pilot randomised trial // The Journal of Laryngology & Otology. – 2014. – Т. 128. – №. 08. – С. 709-713.
13. Первушин Ю.В., Рогова С.Ш., Ковалевич Н.И. и др., Лабораторные методы исследования системы гемостаза и диагностика нарушений гемокоагуляции, Ставрополь-Москва, изд. Москва. – 2009. – С. 61.
14. Zimnitsky D.S., Yurkshtovich T.L., Bychkovsky P.M. Synthesis and characterization of oxidized cellulose //Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry. – 2004. – Т. 42. – №. 19. – С. 4785-4791.
15. Vestergaard R.F. et al. Effect of Hemostatic Material on Sternal Healing After Cardiac Surgery //The Annals of thoracic surgery. – 2014. – Т. 97. – №. 1. – С. 153-160.
16. Ariyaratnam P., Bland M., Loubani M. Risk factors and mortality associated with deep sternal wound infections following coronary bypass surgery with or without concomitant procedures in a UK population: a basis for a new risk model? //Interactive cardiovascular and thoracic surgery. – 2010. – Т. 11. – №. 5. – С. 543-546.
17. Kunal S. et al. Mediastinitis in cardiac surgery: A review of the literature //International Journal of Medicine and Biomedical Research. – 2012. – Т. 1. – №. 2. – С. 97-103.
18. Rehman S.M. et al. Risk factors for mediastinitis following cardiac surgery: the importance of managing obesity //Journal of Hospital Infection. – 2014. – Т. 88. – №. 2. – С. 96-102.

19. Risnes I. et al. Mediastinitis after coronary artery bypass grafting risk factors and long-term survival //The Annals of Thoracic Surgery. – 2010. – T. 89. – №. 5. – C. 1502-1509.
20. Tang G. H. L. et al. Prevention and management of deep sternal wound infection //Seminars in thoracic and cardiovascular surgery. – WB Saunders, 2004. – T. 16. – №. 1. – C. 62-69.
21. Rehm S.J. et al. Guidelines for Antimicrobial Usage 2012–2013 //West Islip, NY: Professional Communications. – 2012.
22. Chiang H.Y. et al. Effectiveness of local vancomycin powder to decrease surgical site infections: a meta-analysis //The Spine Journal. – 2014. – T. 14. – №. 3. – C. 397-407.
23. Lochman P. et al. Nanofiber micro-dispersed oxidized cellulose as a carrier for topical antimicrobials: first experience //Surgical infections. – 2010. – T. 11. – №. 1. – C. 29-32.
24. Kanko M., Liman T., Topcu S. A Low-Cost and Simple Method to Stop Intraoperative Leakage-Type Bleeding: Use of the Vancomycin–Oxidized Regenerated Cellulose (ORC) Sandwich //Journal of Investigative Surgery. – 2006. – T. 19. – №. 5. – C. 323-327.
25. Eklund A.M. et al. Mediastinitis after more than 10,000 cardiac surgical procedures //The Annals of thoracic surgery. – 2006. – T. 82. – №. 5. – C. 1784-1789.
26. Magedanz E.H. et al. Risk score elaboration for mediastinitis after coronary artery bypass grafting //Revista Brasileira De Cirurgia Cardiovascular. – 2010. – T. 25. – №. 2. – C. 154-159.
27. Sá M.P.B.O. et al. Risk factors for mediastinitis after coronary artery bypass grafting surgery //Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular. – 2011. – T. 26. – №. 1. – C. 27-35.
28. Abboud C.S., Wey S.B., Baltar V.T. Risk factors for mediastinitis after cardiac surgery //The Annals of thoracic surgery. – 2004. – T. 77. – №. 2. – C. 676-683.

29. Mangram A.J. et al. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999 //American journal of infection control. – 1999. – Т. 27. – №. 2. – С. 97-134.
30. Gårdlund B., Bitkover C.Y., Vaage J. Postoperative mediastinitis in cardiac surgery—microbiology and pathogenesis //European journal of cardio-thoracic surgery. – 2002. – Т. 21. – №. 5. – С. 825-830.
31. Tegnell A., Arén C., Öhman L. Coagulase-negative staphylococci and sternal infections after cardiac operation //The Annals of thoracic surgery. – 2000. – Т. 69. – №. 4. – С. 1104-1109.
32. Wilson A.P. et al. Should the temperature chart influence management in cardiac operations? Result of a prospective study in 314 patients //The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 1988. – Т. 96. – №. 4. – С. 518-523.
33. Ghotaslou R. et al. Mediastinitis after cardiac surgery in Madani Heart Center, Tabriz, Iran //Jpn J Infect Dis. – 2008. – Т. 61. – №. 4. – С. 318-320.
34. Порханов В.А. и др. Клинические рекомендации по хирургическому лечению больных послеоперационным медиастинитом и остеомиелитом грудины и ребер. – 2014.
35. Ku C.H. et al. Risk factors for sternal and leg surgical site infections after cardiac surgery in Taiwan //American journal of epidemiology. – 2005. – Т. 161. – №. 7. – С. 661-671.
36. Milano C.A. et al. Mediastinitis After Coronary Artery Bypass Graft Surgery Risk Factors and Long-term Survival //Circulation. – 1995. – Т. 92. – №. 8. – С. 2245-2251.
37. Farinas M.C. et al. Suppurative mediastinitis after open-heart surgery: a case-control study covering a seven-year period in Santander, Spain //Clinical infectious diseases. – 1995. – Т. 20. – №. 2. – С. 272-279.
38. Munoz P. et al. Postsurgical mediastinitis: a case-control study //Clinical infectious diseases. – 1997. – Т. 25. – №. 5. – С. 1060-1064.
39. Antunes P.E. et al. Mediastinitis after aorto-coronary bypass surgery //European journal of cardio-thoracic surgery. – 1997. – Т. 12. – №. 3. – С. 443-449.

40. Stahle E. et al. Sternal wound complications--incidence, microbiology and risk factors //European journal of cardio-thoracic surgery. – 1997. – T. 11. – №. 6. – C. 1146-1153.
41. Grossi E.A. et al. A survey of 77 major infectious complications of median sternotomy: a review of 7,949 consecutive operative procedures //The Annals of thoracic surgery. – 1985. – T. 40. – №. 3. – C. 214-223.
42. Rodríguez-Hernández M.J. et al. Suppurative mediastinitis after open- heart surgery: a comparison between cases caused by Gram- negative rods and by Gram- positive cocci //Clinical Microbiology and Infection. – 1997. – T. 3. – №. 5. – C. 523-530.
43. Diez C. et al. Risk factors for mediastinitis after cardiac surgery—a retrospective analysis of 1700 patients //Journal of cardiothoracic surgery. – 2007. – T. 2. – №. 1. – C. 1.
44. Ye X. et al. Incidence and costs of bleeding-related complications in French hospitals following surgery for various diagnoses //BMC health services research. – 2013. – T. 13. – №. 1. – C. 186.
45. Achneck H. E. et al. A comprehensive review of topical hemostatic agents: efficacy and recommendations for use //Annals of surgery. – 2010. – T. 251. – №. 2. – C. 217-228.
46. Cooley D.A. Techniques in cardiac surgery. Philadelphia:Saunders. – 1984. – C. 12-20.
47. Harlan B.J., Starr A., Harwin F.M. Median sternotomy. In:Harlan B.J., Starr A., Harwin F.M., eds. Illustrated handbook of cardiac surgery. New York: Springer. – 1996. – C. 14-18.
48. Gay W.A. Atlas of adult cardiac surgery. – Churchill Livingstone, 1990. – C. 1-7.
49. Doty D.B. Cardiac surgery—operative technique. St. Louis: Mosby. – 1997. – C. 10–11.
50. Kirklin J.W. et al. The incision-primary median sternotomy //Cardiac surgery. – 1993. – T. 1. – C. 101.

51. Nelson D.R. et al. The promotional effect of bone wax on experimental *Staphylococcus aureus* osteomyelitis //The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 1990. – T. 99. – №. 6. – C. 977-980.
52. Johnson P., Fromm D. Effects of bone wax on bacterial clearance //Surgery. – 1981. – T. 89. – №. 2. – C. 206-209.
53. Harjula A., Järvinen A. Postoperative median sternotomy dehiscence //Scandinavian journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 1983. – T. 17. – №. 3. – C. 277-281.
54. Robicsek F. et al. The embolization of bone wax from sternotomy incisions //The annals of thoracic surgery. – 1981. – T. 31. – №. 4. – C. 357-359.
55. Sudmann B.Ø., Bang G., Sudmann E. Histologically verified bone wax (beeswax) granuloma after median sternotomy in 17 of 18 autopsy cases //Pathology. – 2006. – T. 38. – №. 2. – C. 138-141.
56. Antoniali F. et al. O impacto de mudanças nas medidas de prevenção e no tratamento de infecções incisionais em cirurgia de revascularização do miocárdio //Rev Bras Cir Cardiovasc. – 2005. – T. 20. – №. 4. – C. 382-391.
57. San Juan R. et al. *Staphylococcus aureus* poststernotomy mediastinitis: description of two distinct acquisition pathways with different potential preventive approaches //The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2007. – T. 134. – №. 3. – C. 670-676.
58. Barbero-Marcial M. et al. Transxiphoid approach without median sternotomy for the repair of atrial septal defects //The Annals of thoracic surgery. – 1998. – T. 65. – №. 3. – C. 771-774.
59. Calafiore A.M. et al. Left anterior descending coronary artery grafting via left anterior small thoracotomy without cardiopulmonary bypass //The Annals of Thoracic Surgery. – 1996. – T. 61. – №. 6. – C. 1658-1665.
60. Eklund A.M., Valtonen M., Werkkala K. A. Prophylaxis of sternal wound infections with gentamicin-collagen implant: randomized controlled study in cardiac surgery //Journal of Hospital Infection. – 2005. – T. 59. – №. 2. – C. 108-112.

61. Arruda M.V.F. et al. The use of the vancomycin paste for sternal hemostasis and mediastinitis prophylaxis //Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular. – 2008. – Т. 23. – №. 1. – С. 35-39.
62. Cimochoowski G.E. et al. Intranasal mupirocin reduces sternal wound infection after open heart surgery in diabetics and nondiabetics //The Annals of thoracic surgery. – 2001. – Т. 71. – №. 5. – С. 1572-1579.
63. Matsushita T., Masuda S., Inoue T. Early experience with combined use of two plant-based hemostatic agents //The Annals of thoracic surgery. – 2010. – Т. 90. – №. 1. – С. 327-328.
64. Samudrala S. Topical hemostatic agents in surgery: a surgeon's perspective //AORN journal. – 2008. – Т. 88. – №. 3. – С. 2-11.
65. Белозерская Г.Г. и др. Гемостатические средства местного действия (обзор) //Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 40. – №. 7. – С. 9-15.
66. Barnard J., Millner R. A review of topical hemostatic agents for use in cardiac surgery //The Annals of thoracic surgery. – 2009. – Т. 88. – №. 4. – С. 1377-1383.
67. Seyednejad H. et al. Topical haemostatic agents //British Journal of Surgery. – 2008. – Т. 95. – №. 10. – С. 1197-1225.
68. Spotnitz W.D., Burks S. Hemostats, sealants, and adhesives: components of the surgical toolbox //Transfusion. – 2008. – Т. 48. – №. 7. – С. 1502-1516.
69. Schonauer C. et al. The use of local agents: bone wax, gelatin, collagen, oxidized cellulose //European Spine Journal. – 2004. – Т. 13. – №. 1. – С. 89-96.
70. Zwischenberger J. B. et al. Comparison of two topical collagen-based hemostatic sponges during cardiothoracic procedures //Journal of Investigative Surgery. – 1999. – Т. 12. – №. 2. – С. 101-106.
71. Fink D. et al. Application of biological glue in repair of intracardiac structural defects //The Annals of thoracic surgery. – 2004. – Т. 77. – №. 2. – С. 506-511.

72. Passage J. et al. Bioglue: a review of the use of this new surgical adhesive in thoracic surgery //ANZ journal of surgery. – 2005. – Т. 75. – №. 5. – С. 315-318.
73. Mahmood Z. et al. Fatal right ventricular infarction caused by Bioglue coronary embolism //The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2004. – Т. 128. – №. 5. – С. 770-771.
74. Bernabeu E. et al. Acute limb ischemia due to embolization of biological glue after repair of type A aortic dissection //Interactive cardiovascular and thoracic surgery. – 2005. – Т. 4. – №. 4. – С. 329-331.
75. Ikeda Y. et al. Vascular effects of poly-N-acetylglucosamine in isolated rat aortic rings //Journal of Surgical Research. – 2002. – Т. 102. – №. 2. – С. 215-220.
76. Fischer T.H. et al. Synergistic platelet integrin signaling and factor XII activation in poly-N-acetyl glucosamine fiber-mediated hemostasis //Biomaterials. – 2005. – Т. 26. – №. 27. – С. 5433-5443.
77. Neuffer M.C. et al. Hemostatic dressings for the first responder: a review //Military medicine. – 2004. – Т. 169. – №. 9. – С. 716-720.
78. Pusateri A.E. et al. Application of a granular mineral-based hemostatic agent (QuikClot) to reduce blood loss after grade V liver injury in swine //Journal of Trauma and Acute Care Surgery. – 2004. – Т. 57. – №. 3. – С. 555-562.
79. Buchta C. et al. Biochemical characterization of autologous fibrin sealants produced by CryoSeal® and Vivostat® in comparison to the homologous fibrin sealant product Tissucol/Tisseel® //Biomaterials. – 2005. – Т. 26. – №. 31. – С. 6233-6241.
80. Beierlein W. et al. Forty years of clinical aprotinin use: a review of 124 hypersensitivity reactions //The Annals of thoracic surgery. – 2005. – Т. 79. – №. 2. – С. 741-748.
81. Вирник А.Д. Биологически активные производные целлюлозы //Успехи химии. – 1973. – Т. 42. – №. 3. – С. 547-567.

82. Ткачева Н.И. и др. Модификация целлюлозы—перспективное направление в создании новых материалов //Высокомолекулярные соединения. – 2013. – С. 1086-1107.
83. Whang H.S. et al. Hemostatic agents derived from chitin and chitosan //Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews. – 2005. – Т. 45. – №. 4. – С. 309-323.
84. Frantz V.K., Clarke H.T., Lattes R. Hemostasis with absorbable gauze (oxidized cellulose) //Annals of surgery. – 1944. – Т. 120. – №. 2. – С. 181.
85. Coseri S. et al. Oxidized cellulose—Survey of the most recent achievements //Carbohydrate polymers. – 2013. – Т. 93. – №. 1. – С. 207-215.
86. Kumar V., Yang T. HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-NaNO<sub>2</sub> mediated oxidation of cellulose—preparation and characterization of bioabsorbable oxidized celluloses in high yields and with different levels of oxidation //Carbohydrate Polymers. – 2002. – Т. 48. – №. 4. – С. 403-412.
87. Stilwell R.L. et al. 15. Oxidized Cellulose: Chemistry, Processing and Medical Applications //Handbook of biodegradable polymers. – 1998. – Т. 7. – С. 291.
88. Качмазов А.А., Жернов А.А. Методы гемостаза и применение препаратов из окисленной восстановленной целлюлозы при резекции почки // Экспериментальная и клиническая урология. – 2010. - № 4. – С. 68-71.
89. Ryšavá J. et al. Surface interactions of oxidized cellulose with fibrin (ogen) and blood platelets //Sensors and Actuators B: Chemical. – 2003. – Т. 90. – №. 1. – С. 243-249.
90. Křížová P. et al. The influence of intrinsic coagulation pathway on blood platelets activation by oxidized cellulose //Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2007. – Т. 82. – №. 2. – С. 274-280.
91. Cheng W. et al. Preparation and characterization of oxidized regenerated cellulose film for hemostasis and the effect of blood on its surface //Cellulose. – 2013. – Т. 20. – №. 5. – С. 2547-2558.

92. Martina B. et al. Oxycellulose: Significant characteristics in relation to its pharmaceutical and medical applications //Advances in Polymer Technology. – 2009. – T. 28. – №. 3. – C. 199-208.
93. Biçer M. et al. Assessment of the Efficacy of the Bio-Absorbable Oxidized Regenerated Cellulose for Prevention of Post-Operative Pericardial Adhesion in the Rabbit Model //Journal of International Medical Research. – 2008. – T. 36. – №. 6. – C. 1311-1318.
94. Jang C.H. et al. The effect of Interceed for reducing adhesion as a middle ear packing agent: an experimental study //International journal of pediatric otorhinolaryngology. – 2008. – T. 72. – №. 10. – C. 1517-1521.
95. Wiseman D.M., Gottlick-Iarkowski L., Kamp L. Effect of different barriers of oxidized regenerated cellulose (ORC) on cecal and sidewall adhesions in the presence and absence of bleeding //Journal of Investigative Surgery. – 1999. – T. 12. – №. 3. – C. 141-146.
96. Dineen P. Antibacterial activity of oxidized regenerated cellulose //Surgery, gynecology & obstetrics. – 1976. – T. 142. – №. 4. – C. 481-486.
97. Pernet M. Absorbable hemostatics. Antibacterial effect of oxidized regenerated cellulose //Annales de chirurgie. – 1983. – T. 37. – №. 9. – C. 700-701.
98. Spangler D. et al. In vitro antimicrobial activity of oxidized regenerated cellulose against antibiotic-resistant microorganisms //Surgical infections. – 2003. – T. 4. – №. 3. – C. 255-262.
99. Lewis K.M. et al. Comparison of regenerated and non-regenerated oxidized cellulose hemostatic agents //European Surgery. – 2013. – T. 45. – №. 4. – C. 213-220.
100. Wu Y. et al. Oxidized regenerated cellulose-based hemostat with microscopically gradient structure //Carbohydrate polymers. – 2012. – T. 88. – №. 3. – C. 1023-1032.
101. He J. et al. Preparation of the water-soluble chitosan-coated oxidized regenerated cellulose gauze //Cellulose. – 2011. – T. 18. – №. 6. – C. 1651-1659.

102. Кондратенко Г.Г., Летковская Т.А., Стахневич В.А. и др. Местный гемостаз при экспериментальных гастродуоденальных кровотечениях //Мед журнал. – 2004. – Т.2. – С. 54-57.
103. Chen Y. et al. Combined oxidized cellulose and cyanoacrylate glue in the management of severe presacral bleeding //Surgery today. – 2009. – Т. 39. – №. 11. – С. 1016-1017.
104. Finley D.S. et al. Fibrin glue-oxidized cellulose sandwich for laparoscopic wedge resection of small renal lesions //The Journal of urology. – 2005. – Т. 173. – №. 5. – С. 1477-1481.
105. Чернявский А.М., Григорьев И.А., Морозов С.В., и др., Контроль локального гемостаза с помощью препаратов окисленной целлюлозы // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2014. – №.8. – С. 71-75.
106. Chalupová M. et al. Local tissue reaction after the application of topical hemostatic agents in a rat partial nephrectomy model //Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2012. – Т. 100. – №. 6. – С. 1582-1590.
107. Takács I. et al. Efficacy of different hemostatic devices for severe liver bleeding: a randomized controlled animal study //Surgical innovation. – 2010. – Т. 17. – №. 4. – С. 346-352.
108. Kheirabadi B.S. et al. Comparative study of the efficacy of the common topical hemostatic agents with fibrin sealant in a rabbit aortic anastomosis model //Journal of Surgical Research. – 2002. – Т. 106. – №. 1. – С. 99-107.
109. Белов Ю.В., Алексеев И.А. Использование окисленной регенерированной целлюлозы (Surgicel Nu-Knit) в дополнение к основным методам хирургического гемостаза при кардиохирургических операциях //Хирургия. – 2009. – Т. 5. – С. 10-14.
110. Tavlaşoğlu M. et al. Comparison of sternal intramedullary bleeding prevention strategies in cardiac surgery //Turkish Journal of Medical Sciences. – 2013. – Т. 43. – №. 5. – С. 695-699.
111. Chun W. et al. Role of oxidized regenerated cellulose in the hemostasis of severe sternal osteoporosis during cardiopulmonary bypass //Journal of Clinical

- Rehabilitative Tissue Engineering Research. – 2011. – T. 15. – №. 25. – C. 4739-4742.
112. Öllinger R. et al. A multicentre, randomized clinical trial comparing the Veriset™ haemostatic patch with fibrin sealant for the management of bleeding during hepatic surgery //HPB. – 2013. – T. 15. – №. 7. – C. 548-558.
113. Novick A.C. et al. Conservative surgery for renal cell carcinoma: a single-center experience with 100 patients //The Journal of urology. – 1989. – T. 141. – №. 4. – C. 835-839.
114. Sabel M., Stummer W. Haemostasis in spine surgery. The use of local agents: Surgicel and Surgifoam //European Spine Journal. – 2004. – T. 13. – №. 1. – C. 97-101.
115. Habal P. et al. Controlled hemostasis in thoracic surgery using drugs with oxidized cellulose //Acta Medica (Hradec Kralove). – 2011. – T. 54. – №. 4. – C. 153-156.
116. Karkos P.D. et al. Day-case endoscopic sinus surgery using dissolvable haemostatic nasal packs: a pilot study //European Archives of Oto-Rhino-Laryngology. – 2007. – T. 264. – №. 10. – C. 1171-1174.
117. Bassetto F. et al. Use of oxidized regenerated cellulose to stop bleeding after a facelift procedure //Aesthetic plastic surgery. – 2008. – T. 32. – №. 5. – C. 807-809.
118. Christenson L.J., Otley C.C., Roenigk R.K. Oxidized Regenerated Cellulose Gauze for Hemostasis of a Two- Stage Interpolation Flap Pedicle //Dermatologic surgery. – 2004. – T. 30. – №. 12, PART 2. – C. 1593-1594.
119. Kordestani S.S. et al. A randomized controlled trial on the hemostasis of femoral artery using topical hemostatic agent //Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis. – 2012. – T. 18. – №. 5. – C. 501-505.
120. Ulrich D. et al. Effect of oxidized regenerated cellulose/collagen matrix on proteases in wound exudate of patients with diabetic foot ulcers //Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing. – 2011. – T. 38. – №. 5. – C. 522-528.

121. Lewis K.M., Atlee H., Mannone A., et al. Efficacy of hemostatic matrix and microporous polysaccharide hemospheres //Journal of Surgical Research. – 2015. – T. 193. – №. 2. – C. 825-830.
122. Tschan C.A., Nie M, Schwandt E, et al. Safety and efficacy of microporous polysaccharide hemospheres in neurosurgery //Neurosurgery. – 2011. – T. 69. – C. 49-63.
123. Valentine R., Athanasiadis T, Moratti S, et al. The efficacy of a novel chitosan gel on hemostasis and wound healing after endoscopic sinus surgery //American journal of rhinology & allergy. – 2010. – T. 24. – №. 1. – C. 70-75.
124. Yau A.H.L., Ou G., Galorport C., et al. Safety and efficacy of Hemospray® in upper gastrointestinal bleeding //Canadian journal of gastroenterology & hepatology. – 2014. – T. 28. – №. 2. – C. 72.
125. Bang B.W., Maeng, J.H., Kim, M.K., et al. Hemostatic action of EGF-endospray on mucosectomy-induced ulcer bleeding animal models // Bio-medical materials and engineering. – 2015. – T. 25. – №. 1. – C. 101-109.
126. Bochicchio G.V., Gupta, N., Porte, R.J., et al. The FINISH-3 Trial: A Phase 3, International, Randomized, Single-Blind, Controlled Trial of Topical Fibrocaps in Intraoperative Surgical Hemostasis //Journal of the American College of Surgeons. – 2015. – T. 220. – №. 1. – C. 70-81.
127. Rosin H. et al. Determination of antibiotic levels in human bone: I. Gentamicin levels in bone //Infection. – 1974. – T. 2. – №. 1. – C. 3-6.
128. Smilack J.D., Flittie W.H., Williams T.W. Bone concentrations of antimicrobial agents after parenteral administration //Antimicrobial agents and chemotherapy. – 1976. – T. 9. – №. 1. – C. 169-171.
129. Matuschek E., Brown D. F. J., Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories //Clinical Microbiology and Infection. – 2014. – T. 20. – №. 4. – C. 255-266.

130. Блатун Л.А. Повидон-йод как средство для профилактики и лечения инфекционных осложнений // Инфекции и антимикробная терапия. – 2005. Т.2. – С. 73-77.
131. Levi M. Critical bleeding in surgery: conventional therapy and new prospects //Minerva anesthesiologica. – 2004. – Т. 70. – №. 5. – С. 267-271.
132. Rupp M.E. Mediastinitis. In: Mandell R, ed. Mandell principles and infectious diseases // 5th ed. Churchill: Churchill Livingstone. – 2000. – С. 941-949.
133. Orlov D., Selby R., Yip P. Platelet dysfunction as measured by a point-of-care monitor is an independent predictor of high blood loss in cardiac surgery // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2014. – Т. 3. – С. 97.
134. Murphy J.J., Glantz W., Schoenberg H.W. The healing of renal wounds. III. A comparison of electrocoagulation and suture ligation for hemostasis in partial nephrectomy //The Journal of urology. – 1961. – Т. 85. – С. 882-883.
135. Lafeuillade B. et al. Residual risk and retrospective analysis of transfusion-transmitted bacterial infection reported by the French National Hemovigilance Network from 2000 to 2008 //Transfusion. – 2015. – Т. 55. – №. 3. – С. 636-646.
136. Prziborowski J. et al. Is bonewax safe and does it help? //The Annals of thoracic surgery. – 2008. – Т. 85. – №. 3. – С. 1002-1006.
137. Гаркова А.Р., Чернявский А.М., Григорьев И.А., Морозов С.В., Родионов В.И., Кравченко Н.И. Эффективность различных форм местных гемостатических материалов на основе окисленной целлюлозы в эксперименте // Ж-л «Вестник хирургии им. И.И. Грекова». – 2015. – Т.174. - №6. – С. 56-60.
138. Блатун Л. А. Некоторые аспекты госпитальной инфекции //Врач. – 1998. – Т. 1. – С. 3-5.
139. Белозер А.А., Смирнов О.А., Петкова В.А. Инфекционный контроль за внутрибольничными инфекциями в стационаре скорой медицинской помощи // Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций. СПб. – 2003. – С. 75-77.

140. Оганесян Е.А., Павлов С.И., Петкова В.А. Эпидемиологический надзор за внутрибольничными инфекциями в Калужской области // Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций. СПб. – 2003. – С. 61-63.
141. Alhan C., Arıtürk, C., Senay, S., Okten, M., Güllü, A. U., Kilic, L., Toraman, F. Use of bone wax is related to increased postoperative sternal dehiscence //Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska. – 2014. – Т. 11. – №. 4. – С. 385-390.
142. Vestergaard R.F. Brüel, A., Thomsen, J.S., Hauge, E.M., Søballe, K., Hasenkam, J.M. The influence of hemostatic agents on bone healing after sternotomy in a porcine model //The Annals of thoracic surgery. – 2015. – Т. 99. – №. 3. – С. 1005-1011.
143. Wolvius E.B., Van der Wal K.G.H. Bone wax as a cause of a foreign body granuloma in a cranial defect: a case report //International journal of oral and maxillofacial surgery. – 2003. – Т. 32. – №. 6. – С. 656-658.
144. Low W.K., Sim C.S. Bone wax foreign body granuloma in the mastoid //ORL. – 2002. – Т. 64. – №. 1. – С. 38-40.
145. Ozerdem G. et al. Bone wax as a cause of a foreign body granuloma in a resternotomy: a case report //Journal of Cardiothoracic Surgery. – 2013. – Т. 8. – №. 1. – С. 1.
146. Qayum A., Koka A. H. Foreign body reaction to bone wax an unusual cause of persistent serous discharge from iliac crest graft donor site and the possible means to avoid such complication-a case report //Cases journal. – 2009. – Т. 2. – №. 1. – С. 1.
147. Базылев В.В., Карпунькин О.А., Воеводин А.Б., Медовщикова С.Е., Карнахин В.А., Россейкин Е.В. Сравнительный анализ результатов применения методики элиминации стеральной инфекции и стандартной методики проведения кардиохирургических операций //Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т. 21. – №. 2. – С. 107-114.

148. Кузнецов М.С., Козлов Б.Н., Насрашвили Г.Г., Панфилов Д.С., Андриянова А.В., Петлин К.А., Шипулин В.М. / Сравнительный анализ результатов применения методики элиминации стеральной инфекции в кардиохирургии //Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал им. акад. Б.В. Петровского. – 2016. – №. 2. – С. 51-59.
149. Lazar H.L., Ketchedjian A., Haime M., Karlson K., Cabral H. Topical vancomycin in combination with perioperative antibiotics and tight glyceimic control helps to eliminate sternal wound infections //The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2014. – Т. 148. – №. 3. – С. 1035-1040.
150. Шихвердиев Н.Н., Хубулава Г.Г., Марченко С.П., Суворов В.В. Влияние местного применения ванкомицина на функцию органов после операций на сердце. Патология кровообращения и кардиохирургия. - 2015. - Т. 19. - № 4. С. 34–37.
151. Бейдик О. В. и др. Экспериментальное исследование процессов остеointеграции имплантатов для наружного чрескостного остеосинтеза с различными биокomпозиционными покрытиями //Orthopaedic Genius. – 2002. – №. 4.
152. Losanoff J.E., Richman B.W., Jones J. W. Disruption and infection of median sternotomy: a comprehensive review //European journal of cardio-thoracic surgery. – 2002. – Т. 21. – №. 5. – С. 831-839.
153. Ragusa R. et al. Use of gelatin powder added to rifamycin versus bone wax in sternal wound hemostasis after cardiac surgery //Interactive cardiovascular and thoracic surgery. – 2007. – Т. 6. – №. 1. – С. 52-55.
154. Tan T.C., Black P.M.L. Sir Victor Horsley (1857–1916): pioneer of neurological surgery //Neurosurgery. – 2002. – Т. 50. – №. 3. – С. 607-612.
155. Ibarrola J.L. et al. Osseous reactions to three hemostatic agents //Journal of endodontics. – 1985. – Т. 11. – №. 2. – С. 75-83.
156. Alberius P., Klinge B., Sjögren S. Effects of bone wax on rabbit cranial bone lesions //Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery. – 1987. – Т. 15. – С. 63-67.

157. Katz S.E., Rootman J. Adverse effects of bone wax in surgery of the orbit //Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery. – 1996. – T. 12. – №. 2. – C. 121-126.
158. Andelius T. C. et al. The effect of haemostatic devices on bone healing 6 months postoperatively in sternotomized pigs //European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. – 2015. – C. 528.
159. Kanczler J. M. et al. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone //Eur Cell Mater. – 2008. – T. 15. – №. 2. – C. 100-114.