

Можно ли использовать раневые покрытия в качестве носителей бактериофагов и лактобактерий? Исследование in vitro

В. В. Бесчастнов¹, И. Ю. Широкова¹, Н. А. Белянина¹, И. Е. Погодин¹,
А. А. Тулунов¹, Ю. О. Тюменков¹, О. В. Ковалишена¹, Т. В. Присада², Э. Ф. Бадиков¹

¹ ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России
Россия, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1

² Филиал АО «НПО Микроген» — Нижегородское предприятие по производству бактериальных препаратов «ИмБио»
Россия, 603950, Нижний Новгород, ул. Грузинская, д. 44

Контактное лицо: Александр Андреевич Тулунов, tulupov.a.a@yandex.ru

Цель исследования — поиск раневого покрытия, представляющего собой подходящую основу для включения в свой состав растворов бактериофагов и лактобактерий, потенциально обладающих способностью преодолевать антибиотикорезистентность микроорганизмов.

Материалы и методы исследования. Проанализированы физико-химические и биологические свойства 12 образцов раневых покрытий разной структуры и свойств, применяемых для лечения ожоговых ран. Раневые покрытия отличались по составляющей основе (биополимеры естественного и искусственного происхождения), способности к биоразложению. Выполнено исследование in vitro следующих свойств раневых покрытий: абсорбция, биологическая инертность и продолжительность сохранения жизнеспособности / литической активности стафилококкового бактериофага и антагонистической активности инокулята *L. plantarum*. Кроме того, изучено наличие собственной антибактериальной активности компонентов раневых покрытий в отношении культуры штамма *S. aureus*.

Результаты исследования. Среди исследованных раневых покрытий наибольшая масса жидкости может быть абсорбирована следующими: Ликосорб®, Fibrosorb®, Биатравм®, Хитокол-С®. Биологической инертностью в отношении стафилококкового бактериофага обладают все исследованные раневые покрытия (обеспечивают формирование зон лизиса *S. aureus*). Сохранение жизнеспособности инокулята *L. plantarum* обеспечили раневые покрытия OPSITE® Post-Op Visible, Fibrosorb®, Альгинран®, Биатравм®. Раневые покрытия OPSITE® Post-Op Visible, Fibrosorb®, Ликосорб® позволяют сохранить литическую активность стафилококкового бактериофага до 7 сут. Сохранение жизнеспособности *L. plantarum* до 2-х сут обеспечивает раневое покрытие Fibrosorb®, до 3-х сут — OPSITE® Post-Op Visible. Собственной антибактериальной активностью в отношении *S. aureus* обладают раневые покрытия Хитокол-С®, Коллахит® ФА, Альгинран® и Aquacel Ag®, при насыщении их раствором стафилококкового бактериофага антибактериальная активность повышалась.

Заключение. Наибольшей абсорбцией растворов инокулята *L. plantarum* и стафилококкового бактериофага с сохранением их жизнеспособности / литической активности обладают раневые покрытия губчатой структуры на основе хитозана и полиуретана.

Ключевые слова: ожоговые раны, раневые покрытия, носители, бактериофаги, лактобактерии, антибиотикорезистентность, местное лечение, перевязочные материалы.

Для цитирования: Бесчастнов В. В., Широкова И. Ю., Белянина Н. А., Погодин И. Е., Тулунов А. А., Тюменков Ю. О., Ковалишена О. В., Присада Т. В., Бадиков Э. Ф. Можно ли использовать раневые покрытия в качестве носителей бактериофагов и лактобактерий? Исследование in vitro. Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б. М. Костюченка. 2023; 10 (3): 22-32.

DOI: 10.25199/2408-9613-2023-10-3-22-32

cc by 4.0

Is it possible to use wound dressings as carriers of bacteriophages and lactobacilli? In vitro study

V. V. Beschastnov¹, I. Yu. Shirokova¹, N. A. Belyanina¹, I. E. Pogodin¹,
A. A. Tulupov¹, Yu. O. Tyumenkov¹, O. V. Kovalishena¹, T. V. Prisada², E. F. Badikov¹

¹ Privolzhsky Research Medical University

10/1 pl. Minin and Pozharsky, Nizhny Novgorod, 603005, Russia

² Branch of NPO Microgen JSC in Nizhny Novgorod — Nizhny Novgorod enterprise for the production of bacterial preparations “ImBio”
44 Gruzinskaya Str., Nizhny Novgorod, 603950, Russia

Objective: To find wound dressings which could incorporate solutions of bacteriophages and lactobacilli and could have potential to overcome microorganism resistance to antibiotic therapy.

Material and methods. Physicochemical and biological properties of 12 samples of wound coverings of different structures and properties which had been used for combustion wounds were analyzed. Wound dressings differed in their keystone structure (biopolymers of natural and artificial

origin) and in biodegradability. The following properties of wound dressings were studied in vitro: absorption, biological inertness and duration of viability / lytic activity of staphylococcal bacteriophage and antagonistic activity of *L. plantarum* inoculum. In addition, own antibacterial activity of wound dressings against *S. aureus* culture was studied too.

Research results. Among the studied wound dressings, the largest mass of liquid can be absorbed by the following wound dressings: Likosorb[®], Fibrosorb[®], Biatraum[®], Hitokol-S[®]. All studied wound coverings are biologically inert towards the staphylococcal bacteriophage (they ensure the formation of zones of *S. aureus* lysis). Viability of *L. plantarum* inoculum was promoted by wound coverings OPSITE[®] Post-Op Visible, Fibrosorb[®], Algipran[®], Biatraum[®]. Wound coverings OPSITE[®] Post-Op Visible, Fibrosorb[®], Likosorb[®] maintain the lytic activity of staphylococcal bacteriophage up to 7 days. *L. plantarum* viability for up to 2 days was registered in Fibrosorb[®] wound covering, up to 3 days — in OPSITE[®] Post-Op Visible. Wound coverings Chitokol-S[®], Kollakhit[®] FA, Algipran[®] and Aquacel Ag[®] have their own antibacterial activity against *S. aureus*; when they were saturated with staphylococcal bacteriophage solution, their antibacterial activity increased.

Conclusion. Wound coverings with sponge structure based on chitosan and polyurethane exhibit the greatest absorption level of inoculum solutions of *L. plantarum* and staphylococcal bacteriophage maintaining their viability / lytic activity.

Keywords: burn wound, wound covering, carrier, bacteriophage, lactobacilli, antibiotic resistance, local treatment, dressings.

For citation: Beschastnov V. V., Shirokova I. Yu., Belyanina N. A., Pogodin I. E., Tulupov A. A., Tyumenkov Yu. O., Kovalishena O. V., Prisada T. V., Badikov E. F. Is it possible to use wound dressings as carriers of bacteriophages and lactobacilli? In vitro study. Wounds and wound infections. The Prof. B. M. Kostyuchenok Journal. 2023; 10 (3): 22–32.

Введение

Хронические и длительно существующие ожоговые раны представляют сложную медико-социальную проблему. Особенностью таких ран является то, что они всегда инфицированы антибиотикорезистентной микрофлорой, а это осложняет закрытие раны ауто-, алло- или гетеропластическим материалом, становится абсолютным противопоказанием для использования клеточных технологий или применения других продуктов тканевой инженерии. Антибиотикорезистентность микроорганизмов, колонизирующих раневые дефекты, — глобальная проблема, послужившая стимулом для развития альтернативных и дополнительных методов противомикробной терапии. Так, биологический метод борьбы с антибиотикорезистентными возбудителями раневой инфекции подразумевает использование литически активных вирусов (бактериофагов) и конкурирующих микроорганизмов (пробиотиков). Большей эффективности биологического метода лечения можно достичь местным применением бактериофагов и пробиотиков в составе носителя, что обусловлено закономерностями раневого процесса. Местная фаготерапия эффективна при соблюдении принципов, выработанных в последние годы на основании экспериментальных и клинических исследований. Одним из таких принципов является создание в зоне клинического интереса концентрации фагов, превышающей некоторое пороговое значение. Этот вопрос активно обсуждается, и, по данным разных авторов, таким пороговым значением является 108–109 КОЕ/мл или концентрация, превышающая концентрацию бактерий-мишеней на два порядка, то есть в 100 раз [1–3]. Для поддержания в области раневого дефекта необходимой концентрации фагов активно ведутся научные исследования по изучению возможности использования специальных носителей на основе современных полимерных материалов [4, 5].

Использование пробиотиков, в частности лактобактерий, для лечения раневой инфекции также активно обсуждается в мировой научной литературе. Так, например, данные о литической активности лактобактерий в отношении патогенных микроорганизмов представлены в результатах исследований, выполненных научными группами из США, Аргентины, Ирана [6–8].

С целью упрощения технологии местного применения бактериофагов и пробиотиков целесообразно рассмотреть возможность использования в качестве носителей этих биологических объектов современные перевязочные материалы на основе полимеров. Особенностью физико-химических характеристик полимерных раневых покрытий является возможность введения в их состав биологически активных веществ, в том числе бактериофагов и пробиотиков. Эти полимеры могут быть как природного (например, хитозан, альгинат, целлюлоза и т. д.), так и синтетического (например, поливиниловый спирт (ПВС), полиуретаны и т. д.) происхождения.

Целью данного исследования явился поиск раневого покрытия, представляющего собой подходящую основу для включения в свой состав растворов бактериофагов и лактобактерий, потенциально обладающих способностью преодолевать антибиотикорезистентность микроорганизмов. Гипотеза исследования: способность полимерных раневых покрытий к абсорбции растворов позволяет сохранить литическую активность бактериофагов и жизнеспособность лактобактерий на срок, соответствующий периоду между перевязками инфицированной раны.

Материалы и методы исследования

Для исследования были отобраны раневые покрытия, используемые при лечении пациентов с ожоговыми ранами:

- Хитокол-С® (ООО «Эверс», Москва, Россия) — раневое покрытие на основе хитозана, представляющее собой высокопористую лиофильно высушенную губку на основе биополимера природного происхождения хитозана и хитозан-коллагенового комплекса с включением ультрадисперсных частиц серебра, обезболивающего средства — анилокаина и протеолитического фермента — химотрипсина;

- OPSITE® Post-Op Visible (Smith & Nephew GmbH, КНР) — раневое покрытие представляет собой влагостойкую и бактерионепроницаемую полиуретановую пленку с ячеистой гигроскопической губкой в виде пчелиных сот;

- HYDROFILM® (Hartmann, Германия) — раневое покрытие на основе полиуретановой пленки;

- Альгипран® (ООО «Наполи», Москва, Россия) — повязка из нетканого материала — полиакрилонитрильных волокон, пропитанных раствором альгината натрия;

- Коллахит® ФА (ООО «Медицинская компания «Коллахит», Железногорск, Россия) — лиофильно высушенное губчатое раневое покрытие на основе хитозана и коллагена с добавлением анилокаина и фурагина;

- Fibrosorb® (Farmplast С. А. Е, Египет) — раневое покрытие, в состав которого входят полиуретановая губка, полиуретановая пленка, ионы серебра;

- НАНО АСЕПТИКА® (ООО «НАНО-АСЕПТИКА», Москва, Россия) — раневое покрытие в виде полотна с наноструктурным покрытием серебром;

- Биатравм® (Линтекс, Санкт-Петербург, Россия) — раневое покрытие на основе модифицированного полиэфирного волокна и коллагеновой губки с антисептиком;

- Полипран® (ООО «Новые перевязочные материалы», Москва, Россия) — гидрофильное пленочное раневое покрытие на основе ПВХ с лидокаином;

- NEOFIX Fibrocold Ag® (Farmplast С.А.Е, Египет) — гидроколлоидная клейкая раневая повязка с ионами серебра, снаружи покрытая антибактериальной водонепроницаемой полиуретановой пленкой;

- Aquacel Ag® (ConvaTec, Великобритания) — повязка на основе волокон Hydrofiber®, которая приобретает гелевую консистенцию при контакте с раневым экссудатом;

- Ликосорб® (Optimelle, Египет) — абсорбирующая адгезивная повязка, пропитанная комбинированным липидокolloидным составом из парафинового масла, мягкого парафина, связующего полимера, гидроколлоидного порошка и антиоксиданта, импрегнированного во вспененный полиуретан.

Указанные раневые покрытия можно классифицировать по следующим основаниям:

- раневые покрытия на основе биополимеров искусственного происхождения (OPSITE® Post-Op

Visible, HYDROFILM®, Fibrosorb®, НАНО АСЕПТИКА®, Биатравм®, NEOFIX Fibrocold Ag®, Aquacel Ag®, Ликосорб®);

- раневые покрытия на основе биополимеров естественного происхождения (Хитокол-С®, Альгипран®, Коллахит® ФА).

Из всех изучаемых покрытий способностью к био-разложению обладают Хитокол-С® и Коллахит® ФА.

В качестве исследуемых образцов биологических средств борьбы с антибиотикорезистентной микрофлорой выбраны официальный раствор стафилококкового бактериофага производства научно-производственного объединения «Микроген» и инокулят *L. plantarum*. Стафилококковый бактериофаг обладал литической активностью в отношении культуры госпитального штамма *S. aureus*, выделенного от пациента ожогового центра Университетской клиники. Указанный штамм был идентифицирован как госпитальный на основании критериев фенотипа (биохимические свойства, антимикробная чувствительность) и генотипа (детекция генов резистентности), а также факта циркуляции этого возбудителя среди пациентов ожогового центра. Инокулят *L. plantarum* является перспективным средством борьбы с антибиотикорезистентной микрофлорой, поскольку, по данным литературы, может обладать антагонистической активностью в отношении патогенов — возбудителей инфекционных осложнений раневого процесса.

На первом этапе исследования оценивали абсорбирующую способность раневых покрытий. Вопрос, на который было необходимо ответить, был следующим: «Какой объем жидкости впитывают раневые покрытия за фиксированный период времени?»

Для стандартизации исследования от каждого раневого покрытия отрезали ножницами по предварительно подготовленному трафарету 4 одинаковых квадратных образца размерами 1,0 × 1,0 см.

Для оценки впитывающей способности раневых покрытий их разделили на группы и погружали в один из следующих растворов:

- группа А — 0,9 % раствор хлорида натрия;
- группа В — раствор стафилококкового бактериофага;
- группа С — инокулят *L. plantarum*;
- группа D — смесь раствора бактериофага и инокулята *L. plantarum* в соотношении 1 : 1.

Перед погружением в раствор каждый образец раневого покрытия предварительно взвешивали на электронных весах, после взвешивания погружали в соответствующий раствор на 1 мин, затем извлекали из раствора и через 30 с, после стекания с него жидкости, вновь помещали на весы. После фиксации массы исследуемый образец помещали в тот же раствор еще на 5 мин и снова повторяли взвешивание. Полученные результаты взвешивания образцов раневых покрытий

площадью 2 см² пересчитывали для расчета массы жидкости на 1 см² поверхности раневого покрытия, сорбированной за 6 мин нахождения в растворе.

На втором этапе исследования отвечали на три вопроса:

1. Как долго сохраняется литическая активность бактериофагов в образцах представленных раневых покрытий?

2. Имеется ли у лактобактерий антагонистическая активность в отношении клинического штамма *S. aureus*?

3. Как долго сохраняется жизнеспособность лактобактерий в образцах представленных раневых покрытий?

Для ответа на первый и второй вопросы оценивали литическую активность бактериофагов и антагонистическую активность лактобактерий в составе растворов, абсорбированных раневыми покрытиями.

Оценка антимикробных свойств исследуемых биологических агентов проводилась с использованием клинического штамма *S. aureus* с изученными свойствами. Применялся метод аппликации образцов раневых покрытий на поверхность агар колумбийского с бараньей кровью, инокулированного тестовыми культурами микроорганизмов в концентрации 10⁸ КОЕ/мл, с последующей инкубацией в термостате при 37 °C в течение суток. Антимикробную активность *L. plantarum* изучали по зонам ингибирования: оценка результатов проводилась качественно по формированию зоны задержки роста в месте аппликации исследуемого образца. Для оценки антимикробной активности методом диффузии в плотной питательной среде взвесью суточной агаровой тест-культуры *S. aureus* стандартизировали до 10⁷ КОЕ/мл в физиологическом растворе и засеивали газоном на плотную питательную среду. На поверхность плотной питательной среды с посевом тест-культуры накладывали по 4 фрагмента каждого образца. В стерильных условиях раневые покрытия нарезали фрагментами 1,0 x 1,0 см. Всего было оценено 300 образцов: по 25 образцов каждого из 12 указанных выше раневых покрытий. Затем по 5 образцов каждого раневого покрытия замачивали в четырех исследуемых растворах.

Для объективной оценки литической активности стафилококкового бактериофага и антагонистической активности *L. plantarum* в отношении культуры *S. aureus* и ее сравнения с возможно имеющейся антибактериальной активностью раневых покрытий применяли 4 вида растворов: группа А — физиологический раствор, используемый в качестве контроля; группа В — раствор стафилококкового бактериофага; группа С — микробный инокулят *L. plantarum*; группа D — смесь раствора стафилококкового бактериофага и инокулята *L. plantarum* в соотношении 1 : 1 (рис. 1)

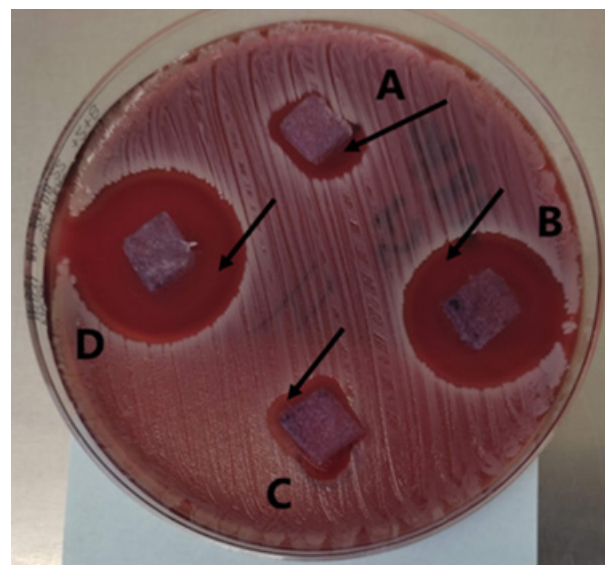


Рис. 1. Чашка Петри с образцами раневого покрытия Альгипран® и зонами задержки роста культуры. А, В, С, D — образцы, различающиеся по составу впитываемого раствора (объяснение в тексте). Стрелки указывают на зоны задержки роста культуры или «стерильные пятна»

Fig. 1. Petri dish with Algispran® wound coating samples and culture growth retardation zones. A, B, C, D are samples that differ in composition of the absorbed solution (explanation in the text). Arrows indicate areas of culture growth retardation or “sterile spots”

Раствор D необходим для оценки взаимного влияния раствора стафилококкового бактериофага и инокулята *L. plantarum* на их биологическую активность в отношении *S. aureus*. Чашки Петри с тест-культурой разделяли на 4 равные зоны и маркировали следующим образом: зона А — для образцов, пропитанных физиологическим раствором (группа А); зона В — для образцов с раствором стафилококкового бактериофага (группа В); зона С — для образцов с раствором инокулята *L. plantarum* (группа С); зона D — для смеси растворов стафилококкового бактериофага и инокулята *L. plantarum* в соотношении 1 : 1 (группа D).

Учет и интерпретацию результатов, формулировку заключения по определению литической активности раствора бактериофага, абсорбированного раневым покрытием, проводили через 24 ч по 5-бальной шкале [9]:

- «—» — отсутствие литической активности;
- «+» — низкая активность;
- «++» — образование зоны лизиса с большим количеством колоний вторичного роста бактерии;
- «+++» — зона лизиса с единичными колониями вторичного роста;
- «++++» — прозрачная зона лизиса без колоний вторичного роста.

В зависимости от полученных результатов в заключении указывали степень лизиса тест-штамма

S. aureus к действию стафилококкового бактериофага, абсорбированного раневым покрытием:

1) исследуемый материал содержит литически активный бактериофаг: в месте нанесения исследуемого материала наблюдается сплошная негативная колония *S. aureus*;

2) исследуемый материал содержит бактериофаг с низкой активностью: в месте нанесения фага наблюдаются отдельные негативные колонии фагов или рост отдельных колоний бактерий на фоне негативной колонии фага;

3) исследуемый материал не содержит бактериофаг: полное отсутствие следов лизиса *S. aureus*.

Для ответа на третий поставленный вопрос – «Как долго сохраняется жизнеспособность лактобактерий в образцах представленных раневых покрытий?» – выполняли исследование в динамике. Для этого образцы раневых покрытий, насыщенных по вышеописанной методике в растворах С и D, помещали в чашку Петри и последовательно через 0, 1, 2, 3, 4, 7 сут выкладывали на среду «Лактобагар» (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск, Россия), предназначенную для выделения и культивирования лактобацилл. Выделение и культивирование *L. plantarum* в составе используемых раневых покрытий выполняли в CO₂-инкубаторе (t 37 °C) в течение 48 ч. Результат оценивали по наличию в области используемых образцов раневых покрытий роста культуры *L. plantarum*.

Статистическая обработка

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с помощью компьютерной программы Statistica 10.0. Оценку статистической значимости различий при сравнении групп по количественному признаку проводили с использованием непараметрических методов: для сравнения двух зависимых (связанных) групп применяли критерий Вилкоксона, для сравнения двух независимых (несвязанных) групп – критерий Манна – Уитни. Доверительные интервалы для относительных показателей оценивали по методу Уилсона. Выборочные параметры, приводимые далее, имеют следующие обозначения: Me [Q1; Q3], где Me – медиана, Q1 – верхний квартиль, Q3 – нижний квартиль, n – объем анализируемой подгруппы, p – величина статистической значимости различий. Критическое значение уровня значимости принимали равным 5 % ($p \leq 0,05$).

Результаты исследования

При оценке первого этапа исследований оказалось, что образцы изучаемых раневых покрытий обладают разной абсорбирующей способностью (рис. 2). Наибольшая масса жидкости была абсорбирована раневыми покрытиями Ликосорб® – 0,86 [0,86; 0,92] г/см², Fibrosorb® – 0,63 [0,61; 0,70] г/см², Биатравм® – 0,62 [0,60; 0,67] г/см², Хитокол-С® – 0,51 [0,48; 0,52] г/см². В этой группе образцы Ликосорб®, Хитокол-С® и Биатравм® были насыщены жидкостью за 1 мин, а

Масса жидкости, сорбированной раневыми покрытиями за 6 минут (г/см², медиана)

Mass of liquid sorbed by wound coverings in 6 minutes (g/cm², median)

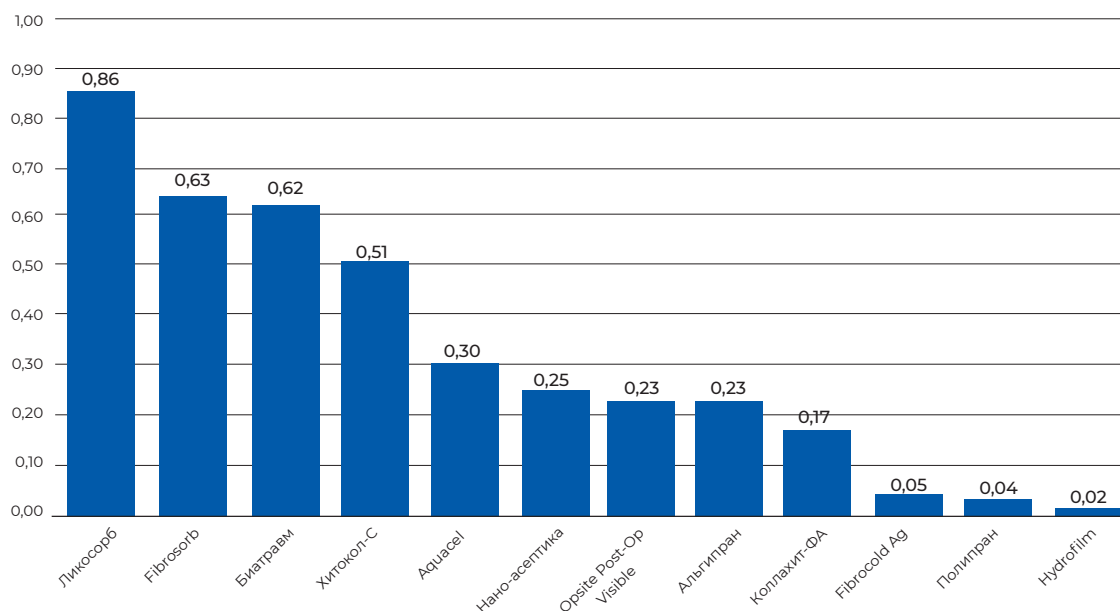


Рис. 2. Показатели впитывающей способности раневых покрытий

Fig. 2. Indicators of wound dressing absorption

образцы Fibrosorb® за первую минуту впитывали менее половины жидкости, оставшаяся часть была сорбирована за следующие 5 мин. Наименьший объем жидкости был сорбирован раневыми покрытиями Hydrofilm® – 0,02 [0,01; 0,03] г/см², Полипан® – 0,04 [0,03; 0,04] г/см² и Fibrocold Ag® – 0,05 [0,04; 0,05] г/см², причем весь объем жидкости был набран за первую минуту и в следующие 5 мин практически не увеличивался. Остальные образцы раневых покрытий сорбировали жидкость в объеме от 0,17 до 0,30 г/см², основная масса жидкости была сорбирована за первую минуту погружения в раствор.

При изучении собственной антибактериальной активности образцов раневых покрытий, насыщенных физиологическим раствором (группа А), выявлено следующее. На 0-е сут исследования, то есть при помещении образцов раневых покрытий на тест-культуру непосредственно после замачивания в исследуемом растворе, реакции лизиса «++++» получены в области применения образцов раневых покрытий Хитокол-С®, Коллахит® ФА, Альгипран® и Aquacel Ag®. В области остальных раневых покрытий, пропитанных физиологическим раствором, «стерильных пятен» на тест-культуре, свидетельствующих об антибактериальной активности, не определялось (литическая активность – «–»). В группе А образцов Хитокол-С®, Коллахит® ФА и Aquacel Ag® зоны лизиса «++++» определялись до 7-х сут исследования. В группе А образца Альгипран® зона лизиса «++++» была отмечена на 2-е сут, после чего на 3, 4, 7-е сут зон лизиса не определялось.

В группе В, то есть при помещении на тест-культуру образцов, насыщенных раствором бактериофага, на 0-е сут отчетливые реакции лизиса отмечены у всех

образцов раневых покрытий. Следует подчеркнуть, что хотя у всех образцов литическая активность была оценена «++++», при сравнении площади зон лизиса образцов раневых покрытий одного вида, но насыщенных разными растворами выявлены различия. Так, диаметр зоны лизиса у образцов раневых покрытий, обладающих собственной антибактериальной активностью (Хитокол-С®, Коллахит® ФА, Альгипран®, Aquacel Ag®), на 0-е сут был больше на 4 [3; 6] мм при насыщении их раствором стафилококкового бактериофага (группа В) по сравнению с физиологическим раствором (группа А) ($p < 0,001$).

С 1-х сут отмечены различия в литической активности бактериофагов, иммобилизованных на разных раневых покрытиях. В раневых покрытиях HYDROFILM®, Полипан®, NEOFIX Fibrocold Ag® через 24 ч экспозиции не выявлено признаков литической активности бактериофагов. В раневых покрытиях Альгипран®, Наноасептика®, Биатравм® зоны лизиса тест-культуры под образцами с раствором бактериофага определялись до 3-х сут. До 4-х сут литическая активность бактериофагов сохранялась в образцах раневого покрытия Коллахит® ФА. У образцов раневых покрытий Хитокол-С®, OPSITE® Post-Op Visible, Fibrosorb®, Aquacel Ag®, Ликосорб®, сорбиравших раствор бактериофага, зоны лизиса определялись до 7-х сут. Диаметр зон лизиса с увеличением экспозиции раневых покрытий до их помещения на тест-культуру уменьшался. Если в 0-е сут он составлял 29 [26; 31] мм, то к 7-м сут у образцов раневых покрытий Хитокол-С®, OPSITE® Post-Op Visible, Fibrosorb®, Aquacel Ag®, Ликосорб® он сократился до 17 [14; 21] мм ($p < 0,001$) (рис. 3).

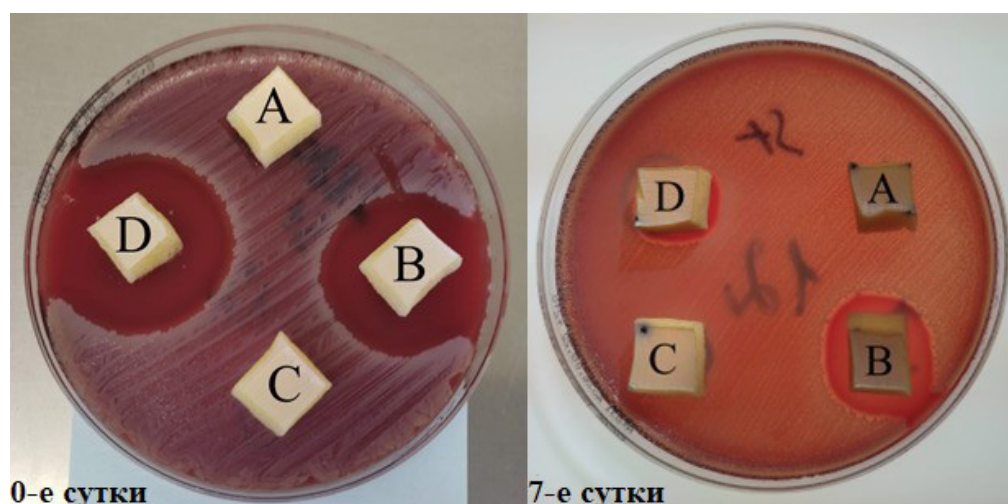


Рис. 3. Раневое покрытие Ликосорб® на тест-культуре *S. aureus* на 0-е и 7-е сут эксперимента. Зоны задержки роста культуры (зоны лизиса) в области групп В и D, в области групп А и С зон лизиса / задержки роста нет. Уменьшение диаметра зон лизиса на 7-е сут по сравнению с 0-ми сут
Fig. 3. Licosorb® wound dressing on *S. aureus* test cultures on days 0 and 7 of the experiment. Culture growth retardation zones (lysis zones) in the area of groups B and D; there are no lysis zones in the area of groups A and C. Reduction of the diameter of lysis zones on day 7 compared to day 0

Раствор инокулята лактобактерий (группа С), сорбированный образцами раневых покрытий, антагонистической активности не показал. В тест-культурах с размещенными на них раневыми покрытиями без собственной антибактериальной активности зон задержки роста не наблюдалось. На чашках Петри с тест-культурой, где были размещены образцы раневых покрытий с заявленной производителем антибактериальной активностью (Хитокол-С[®], Aquacel Ag[®], Альгипран[®] и Коллахит[®] ФА), отмечалось наличие «стерильного пятна» диаметром 15 [13; 18] мм, но при этом его диаметр не отличался от такового (16 [13; 19] мм) при использовании физиологического раствора для насыщения соответствующего раневого покрытия в группе А ($p = 0,4$).

Литическая активность образцов раневых покрытий, сорбировавших смесь растворов бактериофага и инокулята лактобактерий (группа D), на 0-е сут экспозиции не отличалась от активности в группе В, то есть в образцах, сорбировавших чистый раствор бактериофага. Начиная с 1-х сут прослеживались различия в площади зоны лизиса: «стерильное пятно» было на 2 [2; 3] мм больше в группе В ($p = 0,014$), то есть при сорбции раневым покрытием чистого раствора бактериофага.

При анализе результатов насыщения инокулятом *L. plantarum* раневых покрытий с последующим их размещением на чашках Петри, содержащих питательную среду «Лактобакагар», рост колоний лактобактерий на 1-е сут был отмечен под образцами раневых покрытий OPSITE[®] Post-Op Visible, Fibrosorb[®], Альгипран[®], Биатравм[®]. Колонии лактобактерий характеризовались следующими признаками: округлой формы, некрупные, гладкие, с ровными краями; не имели яркой окраски, бело-молочного цвета (рис. 4).

Под раневыми покрытиями OPSITE[®] Post-Op Visible, Fibrosorb[®] колонии *L. plantarum* визуализировались в обеих исследуемых зонах, то есть при насыщении образцов раневых покрытий как чистым инокулятом *L. plantarum* (группа С), так и смесью инокулята *L. plantarum* и раствора стафилококкового бактериофага (группа D).

В области размещения раневых покрытий Альгипран[®] и Биатравм[®] наличие колоний *L. plantarum* отмечалось только в группе С (чистый раствор инокулята), в группе D (смесь растворов инокулята *L. plantarum* и стафилококкового бактериофага) роста колоний не наблюдалось.

На 2-е сут колонии *L. plantarum* были отмечены в области раневых покрытий OPSITE[®] Post-Op Visible и Fibrosorb[®]. На 3-и сут колонии *L. plantarum* определялись только в области раневого покрытия OPSITE[®] Post-Op Visible. На 2–3-и сут в области указанных раневых покрытий рост колоний отмечался при использовании как чистого раствора инокулята *L. plantarum*

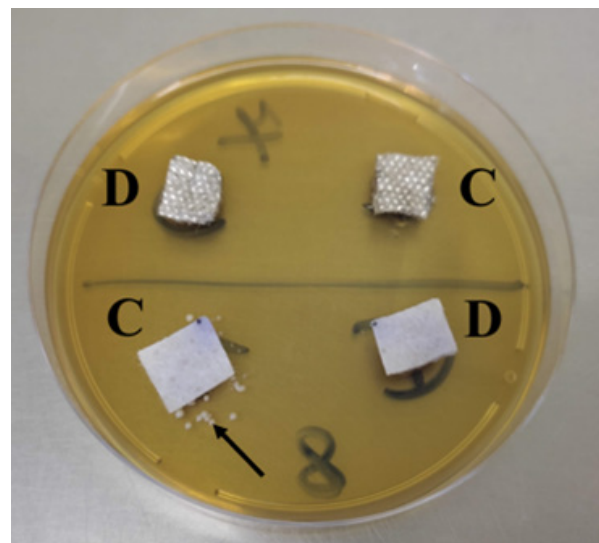


Рис. 4. Чашка Петри с питательной средой «Лактобакагар» и размещенными на ней раневыми покрытиями (на верхней половине — Наноасептика[®], на нижней половине — Биатравм[®]). Экспозиция раствора в раневом покрытии перед размещением на питательную среду — 24 ч. В области раневого покрытия Биатравм[®] в зоне С (чистый раствор инокулята) отмечается наличие колоний *L. plantarum* (отмечено стрелкой), в зоне D (смесь растворов инокулята и бактериофага) колоний не наблюдается

Fig. 4. Petri dish with “Lactobacagar” nutrient medium and wound dressings on it (Nanoaseptics[®] on the upper half, Biatravm[®] on the lower half). Solution exposure in the wound coating before placing it on the nutrient medium is 24 hours. In the area of wound covering Biatravm[®] in zone C (pure inoculate solution), *L. plantarum* colonies are seen (arrow); in zone D (mixture of inoculate and bacteriophage solutions), no colonies are seen

(группа С), так и смеси инокулята *L. plantarum* с раствором стафилококкового бактериофага (группа D).

Обсуждение

Необходимо подчеркнуть, что проведенное исследование не оценивает качество раневых покрытий. Ни одно из исследуемых раневых покрытий не разрабатывалось как носитель биологических объектов и не имеет соответствующих показаний для применения в качестве такового. С другой стороны, каждое из исследованных раневых покрытий имеет собственные показания к применению и положительный опыт клинического использования в рамках этих показаний. Результаты поиска наиболее подходящего раневого покрытия для использования его вне инструкции (off-label) в качестве специфического носителя бактериофагов и лактобактерий не могут характеризовать качество раневого покрытия при использовании его в рамках инструкции производителя. В представленном исследовании выполнен поиск оптимального носителя биологических объектов для местного лечения ран, который должен хорошо сорбировать жидкость, обеспечивать сохранение жизнеспособности и последующее высвобождение бактериофагов и пробиотиков.

Приведем краткие характеристики материалов, на основе которых были произведены тестируемые раневые покрытия. Хитозан — производное хитина, широко распространенного в природе, в частности являющегося основой панциря морских членистоногих, материала — представляет собой биополимер, состоящий из поли-N-ацетилглюкозамина. Хитозан образуется после деацетилирования хитина путем обработки горячим гидроксидом натрия и обладает такими потенциально полезными биологическими свойствами, как гемостатические, бактерицидные, ранозаживляющие [10–13]. Кроме того, исследована и доказана возможность использования хитозана как скаффолда и носителя лекарственных средств [14, 15]. Хитозан широко применяется для профилактики и лечения инфекций благодаря его противомикробным свойствам, а также способности эффективно доставлять другие биологически активные вещества в область клинического интереса. Однако физико-химические особенности хитозана, такие как молекулярная масса, степень деацетилирования (определяется как молярная доля остатков глюкозамина), ионная сила раствора, и особенно pH, потенциально могут влиять на литические свойства бактериофагов [16].

Альгинат натрия был выделен в конце XIX в. английским фармацевтом Э. Стэнфордом. В настоящее время вещество получают из бурых и красных морских водорослей, произрастающих в районе Индонезии. При добавлении к нему жидкости альгинат натрия способен абсорбировать массу жидкости в 300 раз больше собственного веса. Технические характеристики раневого покрытия: толщина пластины — $4,0 \pm 1,0$ мм, сорбционная способность губчатой формы — не менее 20 г/г, паропроницаемость — 5,0–5,5 мг (см² × ч), сроки биodeградации — 10–28 сут [17].

ПВС — нейтральный гидрогель с высокой биосовместимостью, хорошими гидрофильными свойствами и биомеханическими характеристиками, который может легко образовывать гидрогели и широко используется для создания перевязочных средств с контролируемым высвобождением лекарств, поэтому считается многообещающим перевязочным материалом. Изученные ранее нами экспериментальные образцы раневого покрытия на основе ПВС демонстрировали перспективные свойства в качестве носителя бактериофагов, поскольку имели более высокие показатели насыщения жидкостью [18].

Раневые покрытия на основе полиуретана приобретают все большее распространение в связи с наличием у этого материала таких перспективных качеств, как биологическая нейтральность, высокая впитывающая и удерживающая способность, небольшой вес, мягкость и пластичность.

В литературе описаны разные физико-химические методы, посредством которых возможна

иммобилизация биологических объектов на полимерных материалах. Современные биополимеры обладают важными для лечения ран свойствами, такими как биосовместимость, устойчивость, нетоксичность, неиммуногенность, механическая прочность, распространенность, антибактериальный эффект и высокая гидрофильность. Они обладают эффективной способностью абсорбировать и удерживать большое количество раневого экссудата и могут поддерживать оптимальную локальную влажность. В частности, фаги могут быть иммобилизованы на раневых покрытиях посредством физической сорбции (физической абсорбции), электростатического взаимодействия или ковалентного связывания [19, 20]. Эти методы пока не получили широкого распространения. В условиях клинической необходимости преодоления антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов наиболее простым и экономически выгодным способом иммобилизации фагов в области раневого дефекта является абсорбция раневым покрытием [21, 22]. Сорбция (от лат. *sorbeo* — поглощаю) — поглощение твердым телом либо жидкостью разных веществ из окружающей среды. Поглощаемое вещество, находящееся в среде, называют сорбатом (сорбтивом), поглощающее твердое тело или жидкость — сорбентом. По характеру поглощения сорбата сорбционные явления делятся на два типа: адсорбцию — концентрирование сорбата на поверхности раздела фаз или его поглощение поверхностным слоем сорбента и абсорбцию — объемное поглощение, при котором сорбат распределяется по всему объему сорбента.

Результаты первого этапа исследования, а именно оценки объема жидкости, которая может быть абсорбирована раневыми покрытиями, показали, что раневые покрытия в разной степени впитывают жидкость и потенциально могут быть использованы в качестве носителя растворов бактериофагов и инокулятов лактобактерий. Наибольшую сорбционную способность проявили раневые покрытия, предназначенные производителем для лечения ран в фазе экссудации: Ликосорб®, Fibrosorb®, Биатравм®, Хитокол-С®. Раневое покрытие HYDROFILM®, показавшее минимальную сорбционную способность, предназначено в основном для использования в качестве вторичной повязки и механической защиты раны. Периоды времени погружения раневых покрытий в растворы — 1 мин и 6 мин — были выбраны, исходя из клинической целесообразности. Во время выполнения перевязок пациента врачу и медицинской сестре отвлекаться на длительное время для подготовки раневых покрытий нецелесообразно. В то же время процесс подготовки пациента, снятия повязки и обнажения раневого дефекта в среднем занимает 5–6 мин. Это время можно использовать для насыщения раствором

раневого покрытия, пока параллельно выполняются манипуляции с раной.

На втором этапе изучалась длительность сохранения жизнеспособности стафилококкового бактериофага и *L. plantarum* в составе раневых покрытий. Поскольку процесс высвобождения фага может зависеть от вещества, являющегося основой раневого покрытия, необходима объективная оценка этого процесса. В литературе описана методика качественной оценки высвобождения фагов из полутвердой субстанции путем нанесения исследуемого состава на чувствительную к фагу бактериальную культуру с последующей ее инкубацией при 37 °C в течение ночи [23, 24]. В нашей работе мы использовали аналогичную методику контроля высвобождения стафилококкового бактериофага из раневых покрытий.

Согласно результатам проведенного исследования, весьма перспективным представляется использование в качестве носителя бактериофагов раневых покрытий на основе полимеров природного происхождения, в частности хитозана. Антибактериальная активность хитозана обратно пропорциональна pH, при этом более высокая активность достигается при более низком значении pH [25]. Поскольку значение pH критически важно для сохранения литической активности бактериофагов, то очень важно было выяснить клиническую эффективность совместного применения хитозана и бактериофагов. Полученные результаты *in vitro* свидетельствуют о такой возможности: раневое покрытие Коллахит® ФА сохраняло литическую активность стафилококкового бактериофага до 4-х сут, а раневое покрытие Хитокол С® — до 7-х сут. Полученные результаты не только подтверждают данные В. В. Машеля и соавт. о высокой антимикробной активности раневых покрытий на основе хитозана и необходимости их дальнейшего изучения, но и обосновывают возможность использования этого типа раневых покрытий в качестве носителя бактериофагов и лактобактерий [12].

В представленное исследование из группы повязок на основе полиуретана были включены OPSITE® Post-Op Visible, HYDROFILM®, Fibrosorb®, Ликосорб®. В трех из четырех раневых покрытий (OPSITE® Post-Op Visible, Fibrosorb®, Ликосорб®) литическая активность стафилококкового бактериофага сохранялась до 7-х сут. Необходимо отметить, что только в раневых покрытиях на основе полиуретана сохранялась жизнеспособность *L. plantarum*, что проявлялось ростом колоний в области раневых покрытий в течение периода, превышающего 24 ч после абсорбции инокулята *L. plantarum*. Так, под раневым покрытием Fibrosorb® колонии *L. plantarum* определялись после 2-х сут экспозиции, а под раневым покрытием OPSITE® Post-Op Visible — после 3-х сут. В отличие от данных, полученных в исследовании зарубежных ученых,

мы не обнаружили антагонистической активности у используемого инокулята *L. plantarum* [8]. Следует отметить, что в нашем исследовании изучалась антагонистическая активность *L. plantarum* в отношении клинического штамма *S. aureus*, а в упомянутом исследовании иранских коллег лактобактерии подавляли рост *Ps. aeruginosa*. Необходимо дальнейшее изучение антибактериальной активности лактобактерий в отношении клинически значимых патогенных штаммов микроорганизмов.

Диаметры зоны лизиса тест-культуры в области зоны А и зоны С не различались, что свидетельствует об отсутствии собственной литической активности у инокулята *L. plantarum*. Различия между диаметрами зон лизиса групп А и В закономерны, поскольку имеющаяся у части раневых покрытий собственная антибактериальная активность дополнялась противомикробными свойствами стафилококкового бактериофага. Несколько меньший размер диаметра зон лизиса в зоне D по сравнению с зоной В, отмеченный в большинстве опытов, объясняется снижением концентрации раствора стафилококкового бактериофага при смешивании его с раствором инокулята *L. plantarum*.

Заключение

Таким образом, при сравнении эффективности использования раневых покрытий в качестве носителя бактериофагов и лактобактерий можно сделать следующие выводы.

1. Впитывающая способность различается у раневых покрытий, выполненных из разных материалов, но с точки зрения сохранения жизнеспособности лактобактерий и литической активности бактериофагов более важной является способность раневого покрытия удерживать используемый раствор.
2. Наибольшей абсорбцией растворов инокулята *L. plantarum* и стафилококкового бактериофага с сохранением их жизнеспособности и антагонистических/литических свойств обладают раневые покрытия губчатой структуры на основе хитозана и полиуретана.
3. Раневые покрытия на основе хитозана с коллагеном обладают собственной антибактериальной активностью и обеспечивают сохранение литической активности бактериофагов в течение 4–7 сут.
4. Раневые покрытия на основе полиуретана после абсорбции *L. plantarum* обеспечивают жизнеспособность этих бактерий до 2–3-х сут.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

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

Funding. The study was carried out under the state task from the Ministry of Health of Russia No. 056-00015-21-00 “To study the mechanisms of complex resistance of microorganisms to antimicrobial drugs and physical antimicrobial factors and to develop ways to overcome it” (2021–2023).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Dąbrowska K., Abedon S. T. Pharmacologically Aware Phage Therapy: Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Obstacles to Phage Antibacterial Action in Animal and Human Bodies. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2019; 83 (4): e00012–e00019.
2. Abedon S. Phage therapy pharmacology: calculating phage dosing. *Adv Appl Microbiol.* 2011; 77: 1–40.
3. Venturini C., Petrovic Fabijan A., Fajardo Lubian A., et al. Biological foundations of successful bacteriophage therapy. *EMBO Mol Med.* 2022; 14 (7): e12435.
4. Merabishvili M., Monserez R., van Bellegheem J., et al. Stability of bacteriophages in burn wound care products. *PLoS One.* 2017; 12(7): e0182121.
5. Malik D. J., Sokolov I. J., Vinner G. K., et al. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017; 249: 100–133.
6. Lenzmeier T. D., Mudaliar N. S., Stanbro J. A., et al. Application of *Lactobacillus gasseri* 63 AM supernatant to *Pseudomonas aeruginosa*-infected wounds prevents sepsis in murine models of thermal injury and dorsal excision. *J Med Microbiol.* 2019; 68 (10): 1560–1572.
7. Valdéz J. C., Peral M. C., Rachid M., et al. Interference of *Lactobacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11 (6): 472–479.
8. Soleymanzadeh Moghadam S., Mohammad N., Ghooshchian M., et al. Comparison of the effects of *Lactobacillus plantarum* versus imipenem on infected burn wound healing. *Med J Islam Repub Iran.* 2020; 34: 94.
9. Асланов Б. И., Зуева Л. П., Пунченко О. Е. и др. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике: методические рекомендации. М., 2022. 32 с. [Aslanov B. I., Zueva L. P., Punchenko O. E., et al. *Rational use of bacteriophages in therapeutic and antiepidemic practice* = Aslanov B. I., Zueva L. P., Punchenko O. E. i dr. *Ratsional'noe primenenie bakteriofagov v lechenii i protivoepidemicheskoy praktike: metodicheskie rekomendatsii.* Moskva, 2022. 32 s. (In Russ.)]
10. Pusateri A. E., McCarthy S. J., Gregory K. W., et al. Effect of a chitosan-based hemostatic dressing on blood loss and survival in a model of severe venous hemorrhage and hepatic injury in swine. *J Trauma.* 2003; 54 (1): 177–182.
11. Rabea E. I., Badawy M. E., Stevens C. V., et al. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules.* 2003; 4 (6): 1457–1465.
12. Машель В. В., Кондратенко Г. Г., Протасевич А. И. и др. Антимикробная активность нановолокон хитозана и его модификаций по отношению к возбудителям раневой инфекции. *Военная медицина.* 2022; 3 (64): 40–45. [Mashel' V. V., Kondratenko G. G., Protasevich A. I., et al. *Antimicrobial activity of chitosan nanofibers and its modifications in relation to pathogens of wound infection* = Mashel' V. V., Kondratenko G. G., Protasevich A. I. i dr. *Antimikrobnaya aktivnost' nanovolon hitozana i ego modifikatsij po otnosheniyu k vozбудitelyam ranevoj infekcii.* Voennaya medicina. 2022; 3 (64): 40–45. (In Russ.)]
13. Azad A. K., Sermisintham N., Chandrakachang S., et al. Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2004; 69 (2): 216–222.
14. Di Martino A., Sittlinger M., Risbud M. V. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials.* 2005; 26 (30): 5983–5990.
15. Aksungur P., Sungur A., Unal S., et al. Chitosan delivery systems for the treatment of oral mucositis: in vitro and in vivo studies. *J Control Release.* 2004; 98 (2): 269–279.
16. Dai T., Tanaka M., Huang Y. Y., et al. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011; 9 (7): 857–879.
17. Большаков И. Н., Еремеев А. В., Черданцев Д. В. и др. Биодegradируемые раневые покрытия на основе полисахаридных полимеров в лечении обширной ожоговой травмы (клиническое исследование). *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии.* 2011; 3 (38): 56–62. [Bolshakov I. N., Ereemeev A. V., Cherdantsev D. V., et al. *Biodegradable wound coatings based on polysaccharide polymers in the treatment of extensive burn injury (clinical study)* = Bol'shakov I. N., Ereemeev A. V., Cherdantsev D. V. i dr. *Biodegradiruemye ranevye pokrytiya na osnove polisaharidnykh polimerov v lechenii obshirnoj ozhogovoy travmy (klinicheskoe issledovanie).* Voprosy rekonstruktivnoy i plasticheskoy hirurgii. 2011; 3 (38): 56–62. (In Russ.)]
18. Бесчастнов В. В., Рябков М. Г., Леонтьев А. Е. и др. Исследование in vitro жизнеспособности бактериофагов в составе комплексных гидрогелевых раневых покрытий. *Современные технологии в медицине.* 2021; 13 (2): 32–39. [Beschastnov V. V., Ryabkov M. G., Leontiev A. E., et al. *In vitro study of the viability of bacteriophages as part of complex hydrogel wound coatings* = Beschastnov V. V., Ryabkov M. G., Leont'ev A. E. i dr. *Issledovanie in vitro zhiznesposobnosti bakteriofagov v sostave kompleksnykh gidrogelevykh ranevykh pokrytij.* Sovremennye tekhnologii v medicine. 2021; 13 (2): 32–39. (In Russ.)]
19. Anany H., Chen W., Pelton R., Griffiths M. W. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in meat by using phages immobilized on modified cellulose membranes. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77 (18): 6379–6387.
20. Serwer P., Hayes S. J. Agarose gel electrophoresis of bacteriophages and related particles. I. Avoidance of binding to the gel and recognizing of particles with packaged DNA. *Electrophoresis.* 1982; 3 (2): 76–80.
21. Chang R. Y. K., Morales S., Okamoto Y., et al. Topical application of bacteriophages for treatment of wound infections. *Transl Res.* 2020; 220: 153–166.
22. Паршин Д. С., Топчиев М. А., Пятаков С. Н. и др. Результаты фаготерапии инфекционных осложнений в неотложной абдоминальной хирургии. *Таврический медико-биологический вестник.* 2022; 25 (2): 72–80. [Parshin D. S., Topchiev M. A., Pyatakov S. N., et al. *Results of phage therapy of infectious complications in emergency abdominal surgery* = Parshin D. S., Topchiev M. A., Pyatakov S. N. i dr. *Rezultaty*

fagoterapii infekcionnyh oslozhenij v neotlozhnoj abdominal'noj hirurgii. Tavricheskij mediko-biologicheskij vestnik. 2022; 25 (2): 72–80. (In Russ.)]

23. Brown T. L., Petrovski S., Dyson Z. A., et al. The formulation of bacteriophage in a semi solid preparation for

control of *Propionibacterium acnes* growth. *PLoS One*. 2016; 11 (3): e0151184.

24. Brown T. L., Thomas T., Odgers J., et al. Bacteriophage formulated into a range of semi-solid and solid dosage forms maintain lytic capacity against isolated cutaneous and opportu-

nistic oral bacteria. *J Pharm Pharmacol*. 2017; 69 (3): 244–253.

25. No H. K., Park N. Y., Lee S. H., et al. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int J Food Microbiol*. 2002; 74 (1-2): 65–72.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бесчастнов Владимир Викторович — доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник Университетской клиники «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0002-9332-3858

Vladimir V. Beschastnov — MD, Dr. Sc. (Med.), Professor, Senior Researcher at the University Clinic “PIMU” of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Широкова Ирина Юрьевна — доктор медицинских наук, заведующая бактериологической лабораторией НИИ профилактической медицины; доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0002-8387-6344

Irina Yu. Shirokova — MD, Dr. Sc. (Med.), Head of the Bacteriological Laboratory of the Research Institute of Preventive Medicine; Associate Professor, Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine “PIMU”, Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Белянина Наталья Александровна — младший научный сотрудник Университетской клиники «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0002-8578-3600

Natalia A. Belyanina — MD, Junior Researcher, University Clinic “PIMU” of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Погодин Игорь Евгеньевич — врач травматолог-ортопед, заведующий ожоговым отделением (взрослых) Университетской клиники «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0002-7008-4962

Igor E. Pogodin — MD, traumatologist-orthopedist, head of the burn department (adults) of the University Clinic “PIMU” of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Тулупов Александр Андреевич — младший научный сотрудник Университетской клиники «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0001-6567-7803

Alexander A. Tulupov — MD, Junior Researcher at the University Clinic “PIMU” of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Тюменков Юрий Олегович — младший научный сотрудник Университетской клиники «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0009-0008-1401-5381

Yuriy O. Tumenkov — MD, Junior Researcher, University Clinic “PIMU” of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Ковалишена Ольга Васильевна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0002-9595-547X

Olga V. Kovalishena — MD, Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine “PIMU” of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Присада Татьяна Валерьевна — кандидат медицинских наук, начальник цеха бактериофагов филиала АО «НПО Микроген» — Нижегородское предприятие по производству бактериальных препаратов «ИмБио», Нижний Новгород, Россия
ORCID 0009-0003-5431-411X

Tatiana V. Prisada — MD, Cand. Sc. (Med.), head of the bacteriophage workshop of the branch of NPO Microgen JSC — Nizhny Novgorod enterprise for the production of bacterial preparations “ImBio”, Nizhny Novgorod, Russia

Бадиков Эмиль Фирдависович — младший научный сотрудник Университетской клиники «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0001-9844-5638

Emil F. Badikov — MD, Junior Researcher, University Clinic “PIMU” of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Авторы:

: В. В. Бесчастнов, И. Ю. Широкова, Н. А. Белянина, И. Е. Погодин, А. А. Тулупов, Ю. О. Тюменков, О. В. Ковалишена, Т. В. Присада, Э. Ф. Бадиков

Authors:

V. V. Beschastnov, I. Yu. Shirokova, N. A. Belyanina, I. E. Pogodin, A. A. Tulupov, Yu. O. Tumenkov, O. V. Kovalishena, T. V. Prisada, E. F. Badikovev

Участие авторов:

Концепция и дизайн — В. В. Бесчастнов, А. А. Тулупов, О. В. Ковалишена
Сбор и обработка материала — И. Ю. Широкова, Н. А. Белянина, И. Е. Погодин, Т. В. Присада
Написание текста — А. А. Тулупов, Э. Ф. Бадиков, Ю. О. Тюменков
Редактирование — В. В. Бесчастнов, О. В. Ковалишена, Т. В. Присада

Authors' contribution:

Concept and design — V. V. Beschastnov, A. A. Tulupov, O. V. Kovalishena
Material collection and processing — I. Yu. Shirokova, N. A. Belyanina, I. E. Pogodin, T. V. Prisada
Text writing — A. A. Tulupov, E. F. Badikov, Yu. O. Tumenkov
Editing — V. V. Beschastnov, O. V. Kovalishena, T. V. Prisada