

На правах рукописи

Денисов
Михаил Валентинович

**Применение лиофилизированных аллотрансплантатов
направленного антимикробного действия
при слуховосстанавливающих операциях у больных
перфоративным средним отитом**

14.00.04 – Болезни уха, горла и носа

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Денисов

Самара – 2002

Работа выполнена в Самарском государственном медицинском университете.

Научный руководитель: доктор медицинских наук
профессор
Аськова Людмила Николаевна

Научный консультант: доктор медицинских наук
Волова Лариса Теодоровна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук
профессор
Шахов Владимир Юрьевич

кандидат медицинских наук
Тарабрина Валентина Васильевна

Ведущая организация – Санкт-Петербургский НИИ уха, носа, горла и речи

Защита состоится «19» декабря 2002г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.02 при Самарском государственном медицинском университете (443079, г. Самара, проспект Карла Маркса, 165-б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Самарского государственного медицинского университета (г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171)

Автореферат разослан «6» ноября 2002г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук профессор *Аськова* Л.Н. Аськова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования.

Тугоухость у больных хроническим средним отитом, ограничивающая выбор профессии, трудоспособность, годность к службе в армии, социальную адаптацию, остается одной из первостепенных проблем отиатрии. Об этом свидетельствуют многочисленные публикации по вопросам реконструктивной хирургии среднего уха в отечественной и зарубежной литературе (А.И. Островский, 1988; И.А. Крупышев, 1990; Н.В. Мишенькин, 1994; И.Б. Солдатов, 1994; Ф.В. Семенов, 1996; Н.К. Починина, 1998; Р.В. Кофанов, И.Г. Горсков, 1998; О.Н. Борисенко, 2001; Р.А. Забиров, И.И. Каган, Р.Р. Рахматуллин, 2002; Smyth G.D.L., 1988; Gomez-Ullate R., Cristobal F., Ruiz C., 1997; Baumann I. et al, 1997; O'Hare T., Goebel J.A., 1999; Emmett JR, 1999).

В зависимости от сохранившихся анатомических элементов среднего уха отохирургами выполняются различные варианты слуховосстанавливающих операций, в ходе которых для создания неотимпанальной мембраны используются ауто- и аллотрансплантаты. Применение аллотрансплантатов предпочтительнее, поскольку имеется возможность получения пластического лоскута любого размера, исключается необходимость дополнительного хирургического вмешательства для получения аутоототрансплантата.

Для закрытия дефекта барабанной перепонки используют аллогенную твердую мозговую оболочку, консервированную методом лиофилизации (Ю.Б. Преображенский, 1973; Cross J.P. Jr., 1984; Attallah M.S., Zakzouk S.M., 1999); в жидкости Cialit TM 1:5000 (Eitschberger E., Gammert C., Pesch H.H. et al., 1978); в гамма-глобулине (И.Б. Солдатов, Г.Б. Горбунова, 1978); в 70⁰ спирте (И.Б. Солдатов, Г.Б. Горбунова, 1978); в 0,25 – 0,75% растворе формалина (Г.Б. Горбунова, И.А. Крупышев, 1984; В.П. Не-

чипоренко, 1985); методом замораживания от -2°C до -4°C в воздушной среде (Т.В. Цурикова, 1984; А.И. Островский, 1988); в 0,6н растворе соляной кислоты (И.А. Крупышев, 1990); а также консервированную трупную барабанную перепонку, хрящ, пуповину.

Существующие виды пластического материала, используемого для создания неотимпанальной мембраны при тимпанопластике, не всегда отвечают требованиям отохирурга – нередко трансплантат отторгается, а иногда и рассасывается. Важную роль в отторжении трансплантата имеет наличие у больных перфоративным средним отитом патогенной и условно-патогенной микрофлоры, персистирующей в полостях среднего уха даже в стадии ремиссии заболевания и активизация в результате операционной травмы тканей воспалительного процесса в барабанной полости после тимпанопластики. Поэтому актуальной проблемой реконструктивной отохирургии является научный поиск новых способов подготовки пластического материала для формирования неотимпанальной мембраны и создания оптимальных условий трансплантации.

Цель исследования.

Целью настоящей работы явилось повышение эффективности слуховосстанавливающих операций у больных перфоративным средним отитом путем использования лиофилизированной твердой мозговой оболочки плода человека (ТМО) направленного антимикробного действия.

Задачи исследования.

1. Определить современное состояние микрофлоры среднего уха у больных перфоративным средним отитом.

2. Разработать методику получения пластического материала направленного антимикробного действия из лиофилизированной ТМО плода человека.

3. Определить в эксперименте длительность антимикробного влияния лиофилизированной ТМО плода человека, насыщенной антибиотиком, с помощью микробиологических методов.

4. Разработать и внедрить в клиническую практику слуховосстанавливающие операции при перфоративном среднем отите с использованием лиофилизированной ТМО плода человека направленного антимикробного действия.

5. Оценить морфологические и функциональные результаты слуховосстанавливающих операций у больных перфоративным средним отитом с использованием лиофилизированной ТМО плода человека направленного антимикробного действия.

Научная новизна.

Экспериментально доказаны антибактериальные и антимикотические свойства лиофилизированной ТМО плода человека, насыщенной с помощью низкочастотного ультразвука лекарственными препаратами антимикробного действия.

Обоснована возможность одновременного насыщения биоткани антибактериальными и антимикотическими препаратами с помощью низкочастотного ультразвука.

Впервые научно аргументировано использование при слуховосстанавливающих операциях у больных перфоративным средним отитом лиофилизированной ТМО плода человека направ-

ленного антимикробного действия (решение о выдаче патента на изобретение «Способ хирургического лечения тугоухости при хронических средних отитах» № 2001112846 от 18.05.2002, приоритет от 08. 05. 2001).

Впервые для создания неотимпанальной мембраны при тимпанопластике у больных перфоративным средним отитом применена лиофилизированная ТМО плода человека направленного антимикробного действия.

Впервые показано, что использование при тимпанопластике лиофилизированной ТМО плода человека направленного антимикробного действия позволяет получить более высокий морфологический и функциональный эффект хирургического вмешательства по сравнению с использованием аллотрансплантатов, не имеющих антимикробных свойств.

Практическая значимость научного исследования.

Разработана методика получения пластического материала, обладающего антибактериальными и (или) антимикотическими свойствами из лиофилизированной ТМО плода человека.

Разработан способ хирургического лечения тугоухости при перфоративных средних отитах с применением лиофилизированной ТМО плода человека направленного антибактериального и антимикотического действия, который позволяет восстановить целостность барабанной перепонки, сформировать неотимпанальную мембрану и воздухоносную неотимпанальную полость и избежать активизации воспалительного процесса в барабанной полости в результате операционной травмы тканей.

Предложенный способ тимпанопластики дает возможность улучшения слуховой функции у больных перфоративными сред-

ними отитами, экономичен, так как не требует дорогостоящего оборудования.

Внедрение в практику.

Разработанный способ хирургического лечения тугоухости у больных перфоративными средними отитами внедрен в практику Клиники болезней уха, носа и горла Самарского государственного медицинского университета, ЛОР-отделения Дорожной клинической больницы станции Самара.

Апробация работы.

Основные положения диссертации обсуждены на симпозиуме по проблемам тканевых банков с международным участием «Биоимплантология на пороге 21 века» (Москва, 2001), конференции молодых исследователей «Аспирантские чтения 2001» (Самара, 2001), 36-й научно-практической межрегиональной конференции, посвященной 200-летию Ульяновской областной клинической больницы №1 (Ульяновск, 2001), заседании Самарского областного общества оториноларингологов «Лабиринт» в 2002 году.

По материалам исследования опубликовано 7 научных работ, получено решение о выдаче патента на изобретение «Способ хирургического лечения тугоухости при хронических средних отитах» заявка № 2001112846, приоритет от 08. 05. 2001.

Первичная апробация состоялась 30 августа 2002г. на заседании кафедры оториноларингологии имени академика И.Б. Солдатова Самарского государственного медицинского университета.

Объем и структура работы.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной характеристике материалов и методов исследования,

способу лечения, двух глав, включающих результаты и обсуждение экспериментальных и клинических исследований, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 146 страницах машинописного текста, иллюстрирована 9 рисунками, содержит 29 таблиц. Список литературы включает 211 источников, из них отечественных – 140, иностранных – 71.

Положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Обоснование методики получения пластического материала направленного антимикробного действия из лиофилизированной ТМО плода человека.
2. Возможность использования лиофилизированной ТМО плода человека направленного антимикробного действия для создания неотимпанальной мембраны при тимпанопластике.
3. Эффективность слуховосстанавливающих операций с использованием лиофилизированной ТМО плода человека направленного антимикробного действия у больных перфоративным средним отитом.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования.

С учетом цели исследования и для повышения устойчивости пластического материала к активизации микрофлоры уха в связи с хирургическим вмешательством, готовые трансплантаты из лиофилизированной твердой мозговой оболочки (ТМО) плода человека, которые производит ЦНИЛ Самарского государственного медицинского университета, насыщались с помощью ультразвука с частотой 40 кГц в течение 1 минуты цефазолином (1г раствора-

ли в 100 мл 0,9% раствора хлорида натрия) и (или) флуконазолом (0,05г растворяли в 100 мл 0,9% раствора хлорида натрия) и после насыщения химиотерапевтическим препаратом высушивались. Высушенные кусочки биоматериала содержали одинаковое количество химиотерапевтических препаратов на единицу площади. Такие кусочки биоматериала размером 5x5 мм размещали на поверхности газонного посева тест-культур микроорганизмов, а через сутки выдерживания в термостате при $t^{\circ}=37^{\circ}\text{C}$ фиксировали размеры зон задержки роста микроорганизмов вокруг кусочков ткани. В качестве тест-культуры при испытании трансплантатов, насыщенных цефазолином, использовали суточные культуры в жидкой питательной среде *Staphylococcus aureus* штамм Р – 209 и *Escherichia coli*. При изучении антимикробной активности насыщенных флуконазолом трансплантатов тест-культурой являлась *Candida albicans*.

В качестве контроля в указанных опытах использовали, во-первых, посеvy тест-культур микроорганизмов без наложения на их поверхность каких бы то ни было объектов, содержащих химиотерапевтические средства – это был контроль жизнеспособности тест-культур. Во-вторых, использовали определение чувствительности тест-культур микроорганизмов к цефазолину и флуконазолу методом бумажных дисков. Зоны задержки роста микроорганизмов имели постоянные размеры во всех сериях экспериментов, то есть культуры сохраняли одинаковую чувствительность к используемым препаратам.

Определение антимикробного действия насыщенных химиотерапевтическими препаратами трансплантатов выполнялось в первые сутки после их насыщения и высушивания, затем через 1, 2, 3, 4, 6 и 10 недель – всего 7 серий. Каждая серия опытов включала исследование 6 кусочков трансплантатов. Тест-культуры *St.*

aureus и *E. coli* засеивали на кровяной агар, а *Candida albicans* – на среду Сабуро.

Поскольку в барабанной полости у больных хроническим средним отитом в последние годы все чаще определяется присутствие как бактериальной микрофлоры, так и дрожжеподобных грибов рода *Candida* (что подтверждено нашими исследованиями), нами было выполнено изучение *in vitro* эффективности сочетанного действия антибиотика цефазолина и противогрибкового препарата флуконазола на смешанную микрофлору.

Смеси микроорганизмов готовили из суточных бульонных культур дрожжеподобных грибов рода *Candida albicans* и грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, а также из культур *Candida albicans* и грамотрицательных бактерий *Escherichia coli*. Для приготовления смешанной тест-культуры брали равные объемы суточных чистых культур микроорганизмов.

Каждая серия опытов включала 6 проб. Первая серия выполнена сразу после насыщения материала химиотерапевтическим препаратом, вторая – через 1 неделю хранения, третья – через 2 недели, четвертая – через 3 недели, пятая – через 4 недели, шестая серия опытов – через 8 недель.

Контролем служили посевы смешанных культур бактерий и дрожжеподобных грибов на кровяной агар. Во всех случаях регистрировался пышный рост тех и других микроорганизмов.

Известно, что эффективность антимикробных химиотерапевтических препаратов *in vivo* может значительно отличаться от действия *in vitro*.

В связи с этим была выполнена серия исследований с использованием лабораторных крыс. Двенадцати лабораторным белым крысам обоего пола весом около 200 г под кожу средней трети бедра задних лап через разрез помещали кусочек лиофи-

зированной ГМО плода человека, насыщенной цефазолином и флуконазолом, операционную рану ушивали шелковыми швами. Через 1, 2, 3, 7 суток трансплантаты извлекали из лапы (по 3 крысы – 6 трансплантатов – в каждой серии эксперимента) и определяли их антимикробную активность *in vitro*.

Основой клинических наблюдений явились 77 больных перфоративными средними отитами, находившихся на обследовании и лечении в клинике болезней уха, носа и горла Самарского государственного медицинского университета.

Из них 31 пациент, поступивший для хирургического лечения в 1999 – 2002 году, составил основные (первую и вторую) группы, а 46 пациентов, которым ранее (в 1985 – 1990 году) были выполнены слуховосстанавливающие операции по поводу перфоративных средних отитов с использованием твердой мозговой оболочки, консервированной в 0,5% растворе формалина, в 0,6н растворе соляной кислоты, составили контрольные (третью и четвертую) группы.

Для оценки состояния организма в целом и выявления сопутствующих заболеваний всем больным проведено тщательное общее клиническое обследование, исследование ЛОР-органов. В его комплекс включены выяснение жалоб больного, анамнеза, выявление особенностей клинического течения заболевания, эндоскопия ЛОР-органов, отомикроскопия, бактериологическое исследование отделяемого из уха с определением чувствительности микрофлоры к антибиотикам, микологическое исследование, рентгенография височных костей по Шюллеру и Майеру, исследование функции слуховой трубы, акуметрия, вестибулометрия, общий анализ крови, определение времени свертывания, группы крови, резус-фактора, содержания сахара крови.

Результаты исследований фиксировались в специально составленной карте обследования больных перфоративным средним отитом. В ней также отражались сведения о проведенном лечении, ближайших и отдаленных результатах лечения.

Особое внимание обращалось на наличие сопутствующей патологии ЛОР-органов, очагов гнойной инфекции. До операции на ухе 3 больным было проведено консервативное лечение хронического тонзиллита, 9 больным проведено лечение вазомоторного ринита, из них 1 больному была выполнена септопластика, а 8 больным – СО₂ лазерное воздействие на нижние носовые раковины для восстановления носового дыхания, коррекции функции слуховой трубы.

Перед операцией все больные осматривались терапевтом, а при необходимости окулистом, невропатологом, другими специалистами.

После обследования и установления диагноза нами проведена 31 реконструктивная операция на среднем ухе больным перфоративным средним отитом с применением лиофилизированной твердой мозговой оболочки плода человека направленного антимикробного действия. В зависимости от способа восстановления трансформации звукового давления в среднем ухе выполнялись 4 типа реконструктивных операций по Вульштейну (Х. Вульштейн, 1972).

Больным, у которых имелась перфорация барабанной перепонки, а цепь слуховых косточек была не нарушена и подвижна, производилась тимпаноластика I типа по Вульштейну – восстановление нормального строения среднего уха – путем хирургического закрытия дефекта барабанной перепонки.

Пациентам, у которых патологическим процессом была разрушена лишь рукоятка молоточка, а остальная цепь слуховых кос-

точек сохранена и подвижна, выполнялась тимпаноластика II типа по Вульштейну – пластический лоскут укладывался на головку молоточка, при этом восстанавливалась трансформация звукового давления в среднем ухе неотимпанальной мембраной и слуховыми косточками при незначительных дефектах последних.

Тимпаноластика III типа по Вульштейну – использование трансформации звукового давления помещением неотимпанальной мембраны непосредственно на головку стремени – выполнялась больным, у которых патологическим процессом были разрушены молоточек и наковальня, а интактное стремя подвижно, при этом формировалась плоская воздухоносная барабанная полость.

При тимпанопластике IV типа по Вульштейну производилась только звукозащита окна улитки и устья слуховой трубы сформированной неотимпанальной мембраной – без какой-либо трансформации звукового давления в барабанной полости больным, у которых патологическим процессом разрушены молоточек, наковальня, головка и ножки стремени, а сохранившееся основание стремени подвижно.

Первую группу составили 16 больных, которым была выполнена тимпаноластика I типа по Вульштейну. Из них у 9 больных диагностирован хронический гнойный средний отит (мезотимпанит), у 7 пациентов была травматическая перфорация барабанной перепонки размером более двух квадрантов. Для восстановления целостности барабанной перепонки 5 больным была использована лиофилизированная твердая мозговая оболочка плода человека, насыщенная, по предложенному нами способу, с помощью низкочастотного ультразвука цефазолином, 11 больным – цефазолином и флуконазолом.

Вторую группу составили 15 больных, которым была выполнена тимпаноластика II, III, IV типов по Вульштейну. У 12 из

них диагностирован хронический гнойный средний отит, у 3 – адгезивный перфоративный средний отит. Для создания неотимпанальной мембраны 3 пациентам была использована лиофилизированная твердая мозговая оболочка плода человека, насыщенная с помощью низкочастотного ультразвука цефазолином, 12 пациентам – цефазолином и флуконазолом.

Третью группу – контрольную – составили 20 больных, которым в период 1985 – 1990 г.г. была выполнена тимпанопластика I типа по Вульштейну. Из 20 пациентов III группы у 8 в качестве пластического материала был применен лоскут твердой мозговой оболочки, консервированный в 0,6н растворе соляной кислоты, у 12 больных – консервированный в 0,5% растворе формалина.

Четвертую группу – контрольную – составили 26 больных, которым в период 1985 – 1990 г.г. была выполнена тимпанопластика II, III и IV типов по Вульштейну. Из 26 пациентов IV группы у 10 в качестве пластического материала была использована твердая мозговая оболочка, консервированная в 0,6н растворе соляной кислоты, у 16 пациентов – консервированная в 0,5% растворе формалина.

Оценка морфологического результата операций проводилась по состоянию пластического лоскута – учитывались его целостность, цвет, влажность, подвижность.

Оценка функционального результата операций проводилась путем сравнения показателей тональной пороговой аудиометрии (при этом обращалось внимание на величину костно-воздушного интервала), речевой аудиометрии до и после операции, через 1, 3, 6 месяцев, через 1, 1,5 и 2 года после операции. Функциональный результат считали положительным при понижении порогов слуховой чувствительности в области речевых частот и порога восприятия речи на 5 и более дБ.

Статистическая обработка результатов исследования.

Полученные результаты обрабатывались традиционными методами статистики (Р.Н. Бирюкова, Н.В. Догле, И.С. Случанко, 1966; А.Т. Бойко, 1993; С. Гланц, 1999). Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Анализ результатов, составление таблиц проводилось с помощью персонального компьютера Intel Pentium III, в программах Microsoft Word 2000, Microsoft Excel 2000, Statistica 5.5A.

Представление результатов оценки эффективности тимпанопластики.

Для представления эффекта тимпанопластики с использованием лиофилизированной твердой мозговой оболочки плода человека направленного антимикробного действия в сравнении с использованием при операции твердой мозговой оболочки, не имеющей указанных свойств, определяли основные параметры: относительное снижение частоты неблагоприятных исходов, абсолютное снижение частоты неблагоприятных исходов, число больных, которых нужно лечить в течение определенного времени, чтобы предотвратить один неблагоприятный исход (В.В. Власов, 1997; Г.П. Котельников, А.С. Шпигель, 2000; Г.П. Котельников, А.С. Шпигель, С.И. Кузнецов и др., 2001; Guyatt G.H., Cook D.I., Sackett D.L., 1993, 1994; Feinstein A.R., 1995). Неблагоприятным исходом считался случай, при котором не происходило улучшения слуха.

Результаты исследования и их обсуждение.

Проведенные *in vitro* исследования позволяют сделать заключение о выраженном антимикробном действии лиофилизиро-

ванной ТМО плода человека, насыщенной цефазолином и флуконазолом, как на чистые тест-культуры микробов, так и на их сочетания – зоны задержки роста сочетания тест-культур микроорганизмов в течение первого месяца после насыщения материала химиотерапевтическими препаратами были от $31,67 \pm 2,94$ до $41,17 \pm 1,33$ мм в разных сериях эксперимента. Общепринято, что зона задержки роста тест-культуры диаметром более 25 мм свидетельствует о высокой эффективности антимикробного средства.

Экспериментальные исследования *in vivo* проведены для определения антимикробной активности трансплантата из лиофилизированной ТМО плода человека, насыщенной цефазолином и флуконазолом, в отношении тест-культур *Candida albicans* в сочетании с *E. coli*, *Candida albicans* в сочетании с *Staphylococcus aureus*. Зоны задержки роста тест-культур *Candida albicans* в сочетании с *E. coli* составили: через 1 сутки – $34,33 \pm 2,73$ мм, через 2 суток – $27,83 \pm 2,31$ мм, через 3 суток – $17,5 \pm 2,17$ мм; через 7 суток задержки роста микроорганизмов не было. Зоны задержки роста тест-культур *Candida albicans* в сочетании с *Staphylococcus aureus* составили: через 1 сутки – $26,67 \pm 0,82$ мм, через 2 суток – $20,0 \pm 1,41$ мм, через 3 суток – $14,0 \pm 1,09$ мм; через 7 суток задержки роста микроорганизмов не было. Таким образом, в течение 3 суток цефазолин и флуконазол сохраняются в трансплантате, находящемся в тканях лапы крысы, однако их количество снижается, а затем химиотерапевтические препараты перестают обнаруживаться. Следовательно, антибиотик из трансплантата диффундирует в ткани лапы крысы. Можно предположить, что скорость вымывания антибиотиков из трансплантата связана со степенью васкуляризации тканей, и, следовательно, в среднем ухе этот процесс должен быть более длительным.

Таким образом, экспериментальными исследованиями *in vitro* доказана возможность приобретения лиофилизированной ТМО плода человека выраженных антимикробных свойств при насыщении её химиотерапевтическими препаратами под воздействием ультразвука частотой 40 кГц. Экспериментальные исследования *in vivo* показали сохранность этих свойств в течение не менее чем 3 суток после имплантации.

При исследовании микрофлоры отделяемого из уха больных перфоративными средними отитами выявлено, что чаще – у 66,7% больных хроническими перфоративными средними отитами – из среднего уха высеваются микробные ассоциации, из них в 56,7% - ассоциации *St. epidermidis* или *St. aureus* и *E. coli* с грибами *Candida albicans*, в 10% - ассоциации 3-х и более микробов без грибов (чаще - *St. epidermidis*, *E. coli* или *S. faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*), а монокультуры высеваются лишь в 33,3% случаев (*St. aureus* – в 23,3%, *Candida albicans* – в 10% наблюдений) не только в период обострения заболевания, но и при «сухом» ухе. Все выявленные штаммы микроорганизмов оказались полирезистентными, то есть устойчивыми к трем и более традиционно применяемым антибиотикам (пенициллин, линкомицин, эритромицин и другие).

Клиническая часть работы основана на наблюдении 77 больных перфоративным средним отитом.

Шестнадцати больным, составившим первую группу нами была выполнена тимпанопластика I типа по Вульштейну с применением в качестве пластического материала лиофилизированной твердой мозговой оболочки плода человека направленного антимикробного действия.

У 15 пациентов отмечен положительный морфологический результат тимпанопластики. Через 1 месяц после операции пластический лоскут полностью заместился собственными тканями,

следов проведенного хирургического вмешательства не определялось, барабанная перепонка имела естественный вид.

При изучении функциональных результатов тимпанопластики I типа по Вульштейну с применением в качестве пластического материала лиофилизированной твердой мозговой оболочки плода человека направленного антимикробного действия в послеоперационном периоде (от 3 месяцев до 2 лет) у 15 больных отмечено улучшение слуховой функции. Среднее значение порогов слуха на тоны по воздушному звукопроведению в зоне речевых частот составило до операции $26,06 \pm 3,28$ дБ, после операции – $11,76 \pm 3,57$ дБ ($p < 0,05$). Костно-воздушный интервал до операции был равен $22,59 \pm 2,38$ дБ, после операции – $8,66 \pm 2,54$ дБ ($p < 0,05$). Средние показатели 100% разборчивости речи составили до операции $55,31 \pm 3,24$ дБ, после операции – $40,0 \pm 3,62$ дБ ($p < 0,05$). Средние значения порогов слуха на тоны по костному звукопроведению до и после операции достоверно не изменились ($p > 0,05$). Показатели функции громкости не изменились, спонтанных вестибулярных нарушений у больных до и после операции не было выявлено, что свидетельствует об отсутствии неблагоприятного влияния трансплантата на внутреннее ухо.

При сравнении функциональных результатов хирургического вмешательства в послеоперационном периоде у больных I (основной) и III (контрольной) групп получены следующие результаты. У больных основной группы (I) по сравнению с пациентами контрольной группы (III) частота неблагоприятного исхода хирургического вмешательства (острота слуха после операции не улучшилась) наблюдалась значительно реже: частота исходов в группе лечения (ЧИЛ) и частота исходов в группе контроля (ЧИК) соответственно 6% и 35%. Снижение абсолютного риска (САР) – абсолютная арифметическая разница между частотами исходов в

изучаемой и контрольной группах – составило 29% при доверительном интервале (ДИ) 5% - 57%. При этом число больных, которых необходимо лечить с использованием при операции в качестве пластического материала лиофилизированной ТМО плода человека, насыщенной антимикробными средствами, для предотвращения одного неблагоприятного исхода, равно 4 (ДИ 1 – 7).

Снижение относительного риска (СОР) – относительное уменьшение частоты неблагоприятных исходов в группе лечения по сравнению с контрольной группой составило 83% при ДИ 46% - 91%. Общепринято, что клинически значимому результату соответствуют значения СОР $> 50\%$, очень часто соответствуют клинически значимому результату значения от 25 до 50% (Г.П. Котельников, А.С. Шпигель, С.И. Кузнецов и др., 2001).

ОШ (отношение шансов) указывает, во сколько раз вероятность благоприятного или неблагоприятного исхода в исследуемой группе выше или ниже, чем в контрольной группе больных. Отношение шансов, соответствующее значениям менее 1 свидетельствует о снижении вероятности неблагоприятного исхода, равное 1 означает отсутствие эффекта лечения, более 1 – повышение количества неблагоприятных исходов лечения. При сравнении полученных результатов лечения основной и контрольной групп ОШ соответствовало 0,13 при ДИ от 0,02 до 0,4, что свидетельствует о значительном снижении вероятности неблагоприятного исхода лечения при использовании в качестве пластического материала при тимпанопластике I типа по Вульштейну лиофилизированной ТМО плода человека направленного антимикробного действия.

Таким образом, наблюдаемый эффект от применения при тимпанопластике I типа по Вульштейну в качестве пластического материала лиофилизированной ТМО плода человека направленно-

го антимикробного действия (I группа пациентов) значительно выше, чем эффект операции с применением ТМО, не обладающей антимикробным действием ($p < 0,02$, $P = 0,04$).

Пятнадцати больным второй группы нами была выполнена тимпанопластика II, III и IV типов по Вульштейну с применением в качестве пластического материала лиофилизированной твердой мозговой оболочки плода человека направленного антимикробного действия. У 13 пациентов отмечен положительный морфологический результат тимпанопластики – сформировалась неотимпанальная мембрана бледно-розового цвета, подвижная. При изучении функциональных результатов тимпанопластики II, III и IV типов по Вульштейну с применением в качестве пластического материала лиофилизированной твердой мозговой оболочки плода человека направленного антимикробного действия в послеоперационном периоде (от 3 месяцев до 2 лет) у 13 больных отмечено улучшение слуховой функции. Среднее значение порогов слуха на тоны по воздушному звукопроведению в зоне речевых частот составило до операции $47,91 \pm 2,74$ дБ, после операции – достоверно уменьшилось $31,63 \pm 3,73$ дБ ($p < 0,05$). Костно-воздушный интервал до операции был равен $41,44 \pm 2,1$ дБ, после операции – достоверно уменьшился $25,6 \pm 3,07$ дБ ($p < 0,05$). Средние показатели 100% разборчивости речи составили до операции $74,33 \pm 2,28$ дБ, после операции достоверно улучшились – $61,33 \pm 2,51$ дБ ($p < 0,05$). Средние значения порогов слуха на тоны по костному звукопроведению до и после операции достоверно не изменились ($p > 0,05$). Показатели функции громкости не изменились. Спонтанных вестибулярных нарушений у больных до и после операции не было выявлено, что свидетельствовало об отсутствии неблагоприятного влияния трансплантата на внутреннее ухо.

При сравнении функциональных результатов хирургического вмешательства в послеоперационном периоде у больных II (основной) и IV (контрольной) групп получены следующие результаты. У больных основной группы (II) по сравнению с пациентами контрольной группы (IV) частота неблагоприятного исхода хирургического вмешательства (острота слуха в результате операции не улучшилась) наблюдалась значительно реже: частота исходов в группе лечения (ЧИЛ) и частота исходов в группе контроля (ЧИК) соответственно 13% и 42%. Снижение абсолютного риска (САР) составило 29% при доверительном интервале (ДИ) 15% - 43%. При этом число больных, которых необходимо лечить с использованием при операции в качестве пластического материала лиофилизированной ТМО плода человека, насыщенной антимикробными средствами, для предотвращения одного неблагоприятного исхода, равно 4 (ДИ 1 - 7).

Снижение относительного риска (СОР) составило 69% при ДИ 46% - 91%. Клинически значимому результату соответствуют значения $СОР > 50\%$, очень часто соответствуют клинически значимому результату значения от 25 до 50%.

При сравнении результатов лечения основной и контрольной групп ОШ соответствовало 0,2 при ДИ от 0,02 до 0,4, что свидетельствует о значительном снижении вероятности неблагоприятного исхода лечения при применении в качестве пластического материала при тимпанопластике II, III и IV типов по Вульштейну лиофилизированной ТМО плода человека направленного антимикробного действия.

Таким образом, функциональный эффект от применения при хирургическом вмешательстве в качестве пластического материала лиофилизированной ТМО плода человека направленного антимикробного действия (II группа пациентов) значительно выше,

чем эффект операции с применением ТМО, не обладающей анти-микробным действием (IV группа пациентов) ($p < 0,05$, $P = 0,04$).

ВЫВОДЫ

1. Микрофлора среднего уха больных хроническим гнойным средним отитом и адгезивным перфоративным средним отитом претерпевает существенные изменения, проявляющиеся отчетливой тенденцией роста числа микробных ассоциаций, в том числе с грибами, и увеличением антибиотикорезистентных штаммов возбудителей (стафилококков, кишечной палочки). По нашим наблюдениям у 66,7% больных перфоративными средними отитами из среднего уха высеваются микробные ассоциации, из них в 56,7% - ассоциации *St.epidermidis* или *St.aureus* и *E.coli* с грибами *Candida albicans*, в 10% - ассоциации 3 и более микробов без грибов (чаще - *St.epidermidis*, *E.coli* или *S.faecalis*, *Pseudomonas aeruginosae*), а монокультуры высеваются лишь в 33,3% случаев (*St.aureus* - в 23,3%, *Candida albicans* - в 10% наблюдений) не только в период обострения заболевания, но и при «сухом» ухе.
2. Экспериментальными исследованиями *in vitro* доказано, что при насыщении лиофилизированной твердой мозговой оболочки (ТМО) плода человека цефазолином и флуконазолом под воздействием ультразвука с частотой 40 кГц последняя приобретает выраженные антибактериальные и противогрибковые свойства.
3. Экспериментальными исследованиями *in vivo* показано, что антибактериальные и противогрибковые свойства

лиофилизированной ТМО плода человека, насыщенной с помощью низкочастотного (40 кГц) ультразвука цефазолином и флуконазолом, сохраняются в течение не менее чем 3 суток после имплантации.

4. Применение лиофилизированной ТМО плода человека, насыщенной с помощью низкочастотного (40 кГц) ультразвука цефазолином и флуконазолом, при слуховосстанавливающих операциях у больных перфоративным средним отитом позволяет избежать активизации воспалительного процесса в барабанной полости в ближайшем послеоперационном периоде. Лيوфилизированная ТМО плода человека, насыщенная с помощью низкочастотного ультразвука цефазолином и флуконазолом, является устойчивым материалом для создания неотимпанальной мембраны при слуховосстанавливающих операциях у больных перфоративными средними отитами.
5. Применение лиофилизированной ТМО плода человека, насыщенной с помощью низкочастотного (40 кГц) ультразвука цефазолином и флуконазолом, при слуховосстанавливающих операциях у больных перфоративным средним отитом не оказывает отрицательного влияния на функциональное состояние внутреннего уха.
6. Положительные морфологические и функциональные результаты тимпанопластики с использованием лиофилизированной ТМО плода человека, насыщенной с помощью низкочастотного (40 кГц) ультразвука цефазолином и флуконазолом, отмечены при I типе операции в 93,75% случаев, при II, III и IV типах операций - в 86,7% (срок наблюдения от 3 месяцев до 2 лет).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Каждому больному перед тимпанопластикой необходимо исследование спектра микрофлоры среднего уха и чувствительности ее к антибиотикам широкого спектра действия, в связи с тенденцией роста числа микробных ассоциаций, в том числе с грибами, и увеличением доли антибиотикорезистентных штаммов возбудителей в отделяемом из уха у больных хроническим гнойным средним отитом и адгезивным перфоративным средним отитом.
2. В работе оториноларингологических стационаров целесообразно применять при тимпанопластике лиофилизированную твердую мозговую оболочку плода человека, насыщенную с помощью ультразвука частотой 40 кГц цефазолином или флуконазолом, или цефазолином и флуконазолом (в зависимости от спектра микрофлоры отделяемого из уха, чувствительности ее к антибиотикам).
3. Лиофилизированная твердая мозговая оболочка плода человека, насыщенная с помощью низкочастотного ультразвука антимикробными химиотерапевтическими препаратами может быть использована не только при тимпанопластике, но и при других пластических операциях на ЛОР-органах для предупреждения активизации воспалительного процесса в раннем послеоперационном периоде.

Список научных работ по теме диссертации.

1. Аськова Л.Н., Денисов М.В. Новый взгляд на миринго- и тимпанопластику // IV Международный симпозиум «Современные проблемы физиологии и патологии слу-

- ха» Суздаль, 19-21 июня 2001г.: Тез. докл. – М., 2001. – С.29-30.
2. Аськова Л.Н., Денисов М.В. Новые аспекты лечения больных хроническим гнойным средним отитом // «Актуальные вопросы современной медицины». Сборник тезисов и статей XXXIV итоговой научно-практической конференции научно-педагогического состава Самарского военно-медицинского института, посвященной 300-летию военного образования России 8 февраля 2001г.: Тез. докл. – Самара, СамВМедИ, 2001. – С. 41.
3. Волова Л.Т., Аськова Л.Н., Денисов М.В. Применение новых пластических материалов в отохирургии // Первый губернский съезд врачей (Самара, 14-16 июня 2001 года): Сборник тезисов и статей.- Самара: ГП «Перспектива», 2001.-С.110-110.
4. Денисов М.В. К вопросу о хирургическом лечении тугоухости у больных хроническим средним отитом // Аспирантские чтения – 2001 : Сборник тезисов докладов конференции молодых исследователей.- Самара; СамГМУ, 2001.- С. 69-71.
5. Аськова Л.Н., Денисов М.В. Хирургическая реабилитация больных хроническим гнойным средним отитом // Аллергия, иммунология и глобальная сеть: взгляд в новое тысячелетие (Нью-Йорк, США 14-17 апреля 2001): International Journal on immunorehabilitation.- 2001.- Vol. 3.- № 1.- P. 76-77.
6. Аськова Л.Н., Решетникова В.П., Денисов М.В. Обоснование применения при тимпанопластике аллотрансплантатов, обладающих антимикробными свойствами // Проблемы и возможности микрохирургии уха: Материа-

лы Российской научно-практической конференции оториноларингологов. – Оренбург: Печатный дом «Димур», 2002. – С.138-140.

7. Денисов В.П., Аськова Л.Н., Денисов М.В. Бакаева Т.А. Прогнозирование накачивающего эффекта слуховой трубы при подготовке больного к тимпанопластике // Проблемы и возможности микрохирургии уха: Материалы Российской научно-практической конференции оториноларингологов. – Оренбург: Печатный дом «Димур», 2002. – С.185-186.

Подписано в печать 14.10.2002 г.
Формат 60x84¹/₁₆. Бумага офсетная.
Печать офсетная. Тираж 100 экз.
Заказ № 4527.

443099 г. Самара, ул. Куйбышева, 42.
Типография ГУВД Самарской области. Тел. 32-77-85