

УДК 579.841.11:57.084:616-001.17-085.26-085.468.2-085.31:54-414

Abstract

G. M. Cherniakova,

V. V. Minukhin,

Kharkiv National Medical University, 4 Nauky ave., Kharkiv, 61000, Ukraine

EVALUATION OF EFFECTIVENESS OF ORIGINAL SORBENT APPLICATOR FOR TREATMENT OF EXPERIMENTAL PSEUDOMONAS BURN INFECTION

Introduction: *Pseudomonas aeruginosa* is the leading pathogen among the causative agents of burn infections in the patients. It has a multiple natural resistance to antibiotics [3, 4]. One of the ways of overcoming drug resistance is the search and implementation in practice of new drugs with antimicrobial activity, including the medicines for the topical treatment [5].

Purpose: The objective of this study was the evaluation of antibacterial activity of the sorbent applicator which was developed by us on the basis of highly dispersed nano-sized silica with immobilized antimicrobial mixture for the treatment of experimental model of burn *Pseudomonas* infection in mice.

Materials and Methods: The research was conducted on 90 6-month male mice NMRI line weight 18–20 grams. We used for experiments a model of the contact thermal burn with some our additions. After burning the experimental animals were infected by daily agar culture of multidrug resistant clinical strain of *P. aeruginosa* 3101, obtained from a patient with burns. Microbiological studies of burn wounds in experimental animals were carried out.

Results and Discussions: It was found that the application of new original sorbent applicator for 3 days decrease the number of microbial cells in the wound below the critical level (10^5). In this experimental group the amount of purulent discharge from the wounds, swelling, redness and infiltration of tissues were reduced in comparison with the other groups. Earlier cleansing of the wounds and acceleration of reparative processes were observed.

Conclusions: The findings proved that the sorbent applicator exhibits antibacterial properties against multidrug resistant clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa* and can be a prospective complex drug for the topical treatment of *Pseudomonas* infective burns.

Keywords: burn wound, topical treatment, *Pseudomonas* infections, sorbent applicator.

Corresponding author: *anek-22@yandex.ua*

Резюме

Г. М. Чернякова,

В. В. Мінухін,

Харківський національний медичний університет, Проспект Науки 4, Харків, Україна, 61022

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ АПЛІКАЦІЙНОГО СОРБЕНТУ ОРИГІНАЛЬНОГО СКЛАДУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ СИНЬОГНІЙНОЇ ОПІКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ

Вивчено терапевтичні можливості розробленого аплікаційного сорбенту оригінального складу на моделі експериментальної синьогнійної опікової інфекції у мишей. Для зараження тварин використовували добову агарову культуру клінічного полірезистентного штаму *P. aeruginosa* 3101, отриманого від хворого з опіками. Прове-

дено мікробіологічні дослідження щодо оцінки бактеріального обсіменіння опікових ран у експериментальних тварин. Встановлено, що при лікуванні розробленим апікаційним сорбентом, вже на третю добу спостерігалось зниження кількості мікробних тіл в рані нижче критичного рівня (10^5). Зменшувалися кількість гнійних виділень з ран, набряк, гіперемія і інфільтрація тканин, зазначалося більш раннє очищення ран, прискорювалися репаративні процеси в порівнянні з тваринами інших груп. Зазначене вище дає підстави стверджувати, що розроблений нами, новий апікаційний сорбент є перспективним комплексним препаратом для місцевого лікування синьогнійної опікової інфекції.

Ключові слова: опікова рана, місцеве лікування, синьогнійна інфекція, апікаційний сорбент.

Резюме

А. М. Чернякова,

В. В. Мінухін,

Харьковский национальный медицинский университет, Проспект Науки, 4, Харьков, Украина, 61022

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АППЛИКАЦИОННОГО СОРБЕНТА ОРИГИНАЛЬНОГО СОСТАВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СИНЕГНОЙНОЙ ОЖоговой ИНФЕКЦИИ

Изучены терапевтические возможности разработанного аппликационного сорбента оригинального состава на модели экспериментальной синегнойной ожоговой инфекции у мышей. Для заражения животных использовали суточную агаровую культуру клинического полирезистентного штамма *P. aeruginosa* 3101, полученного от больного с ожогами. Проведены микробиологические исследования относительно оценки бактериальной обсемененности ожоговых ран у экспериментальных животных. Установлено, что при лечении разработанным аппликационным сорбентом, к 3 суткам наблюдалось снижение количества микробных тел в ране ниже критического уровня (10^5). Уменьшались количество гнойного отделяемого из ран, отек, гиперемия и инфильтрация тканей, отмечалось более раннее очищение ран, ускорялись репаративные процессы в сравнении с животными остальных групп. Указанное выше позволяет утверждать, что разработанный нами, новый аппликационный сорбент является перспективным комплексным препаратом для местного лечения синегнойной ожоговой инфекции.

Ключевые слова: ожоговая рана, местное лечение, синегнойная инфекция, аппликационный сорбент.

Автор, відповідальний за листування: *anek-22@yandex.ua*

Вступ

Известно, что течение регенеративных процессов в ране, в том числе и ожоговой, во многом зависит от степени её микробного обсеменения [1, 2]. Среди возбудителей ожоговых инфекций у больных, ведущим является *Pseudomonas aeruginosa*, которая обладает множественной природной устойчивостью к антибиотикам [3, 4].

Одним из путей преодоления лекарственной устойчивости является поиск и внедрение в практику новых препаратов с антимикробной

активностью, в том числе для местного применения [5]. Перспективным, по мнению ряда авторов [6], является разработка комбинированных лекарственных форм, состав которых научно обоснован как с точки зрения патогенеза раневого процесса, так и с учетом биологических свойств микроорганизмов, инфицировавших раневую поверхность.

Целью настоящего исследования явилась оценка антибактериальной активности, разработанного нами аппликационного сорбента на основе высокодисперсного нанокремнезема, с им-



мобилизованной на его поверхности противомикробной смесью, для лечения экспериментальной синегнойной ожоговой инфекции.

Объекты и методы исследования. Исследование проводилось на 90 6-ти месячных мышак-самцах линии NMRI, массой 18–20 грамм. Для экспериментов была использована модель контактного термического ожога по Ц. К. Чантурия (1982 г.) [7] в модификации В. В. Минухина и соавт. (1997 г.) [8] с некоторыми нашими дополнениями.

Ожог III-B степени на 10% поверхности тела наносили под эфирным рауш-наркозом на предварительно депилированную дорсальную поверхность мышей. Непосредственно после нанесения термической травмы животным наочно инокулировали суточную агаровую культуру клинического полирезистентного штамма *P. aeruginosa* 3101, полученного из раневого отделяемого больного с ожогами. Непосредственно после ожоговой травмы на раневую поверхность наносили 0,1 мл микробной взвеси синегнойной палочки в дозе $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл соответствующей LD₅₀ отработанной для наочного применения.

На вторые сутки после термической травмы и заражения, под ожоговый струп, вводили 0,1 мл микробной взвеси, содержащей аналогичную дозу синегнойной палочки. На третий день, под местной анестезией 0,5% раствором новокаина, весь ожоговый струп удаляли и начинали лечение обожженных животных путем ежедневного нанесения на рану опытного аппликационного сорбента и контрольных препаратов в течение 21 суток.

Все экспериментальные животные были разделены на 5 групп: 1-я группа – интактные животные; 2-я – животные, которых после ожога инфицировали, но не лечили; 3-я – животные, которых, после нанесения ожога и инфицирования, местно лечили препаратом «Силикс» («Биофарма», Украина); 4-я – животные, которым после ожога и инфицирования, на рану наносили разработанный нами, совместно с лабораторией модифицирования поверхностей оксидов Института химии поверхности им. А. А. Чуйко НАН Украины (зав. лабораторией д.х.н., с.н.с. Воронин Е.Ф.) аппликационный сорбент, основе высокодисперсного нанокремнезема, с иммобилизованной на его поверхности противомикробной смесью, содержащей левофлоксацин («Дарница», Украина) и другие компоненты; 5-я – животные, которым после ожога и инфицирова-

ния на раневую поверхность наносили мазь «Сульфаргин» (АТ «Гриндекс», Латвия).

Взятие материала из раневой поверхности осуществляли с помощью стерильных тампонов на 1, 3, 7, 14 и 21-й дни лечения во время биопсии тканей раны и паравульнарных тканей после туалета раны и перед нанесением лекарственных средств. Посев исследуемого материала производили на плотные питательные среды (МПА с глюкозой, кровяной агар, среда Эндо, среда Хью-Лейфсона) и мясо-пептонный бульон [9].

Количественное определение микробов в 1 мл раневого отделяемого осуществляли по методике Линдслея [10]. Простерилизованной петлей забирали раневое отделяемое, которое в виде пленки размещали в просвете бактериологической петли и сразу же наносили на чашку Петри две линии по 25мм. Первая линия проводилась одной стороной петли, вторая – другой, на первом секторе. Процесс проведения линий контролировался сантиметровой лентой (шаблоном). После нанесения линий производили их расштриховку скользящими движениями бактериологической петли в пределах первого сектора. Затем вновь простерилизованной петлей забирали материал из первого сектора и проводили петлей одну линию длиной 25 мм во втором секторе, проводили её расштриховку в пределах второго сектора. Аналогичным образом производили пересев со второго сектора на третий.

Чашки Петри, с посеянным материалом, инкубировали в термостате 12–24 часа. После этого производили подсчет выросших колоний следующим образом: 1) при количестве колоний 1–10 в I секторе результат = 10^3 КОЕ/мл (колониеобразующих единиц, т. е. микробных клеток в 1 мл исследуемого материала) 2) при количестве колоний 10–100 в I секторе результат = 10^4 КОЕ/мл; 3) при количестве колоний 100–1000 в I секторе результат = 10^5 КОЕ/мл; 4) при количестве колоний 1–10 во II секторе результат = 10^6 КОЕ/мл; 5) при количестве колоний 10–100 во II секторе результат = 10^7 КОЕ/мл; 6) при количестве колоний 1–10 в III секторе результат = 10^8 КОЕ/мл; 7) при количестве колоний 10–100 в III секторе результат = 10^9 КОЕ/мл.

Все опыты повторялись троекратно. Выделенные из раны штаммы синегнойной палочки повторно идентифицировали с учетом их биологических свойств [9], которые во всех случаях были идентичны свойствам штамма *P.*



aeruginosa, использовавшегося для заражения животных.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием стандартных программ обработки данных MS Excel, BioStat LE. Достоверность полученных результатов определяли по критерию Стьюдента ($p < 0,05$).

Содержание и манипуляции над животными проводили с соблюдением норм национального и международного законодательства в соответствии с положением «Общих этических принципов экспериментов на животных» (Киев, 2001), требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые ис-

пользуются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и принципами Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным.

Результаты исследования. У всех обожженных животных местно наблюдались признаки воспаления, нагноение и умеренный отек ран, к общим симптомам были отнесены признаки интоксикации: адинамия, жажда, плохой аппетит. На основании исследования бактериальной обсемененности ожоговой раневой поверхности у мышей в эксперименте, при лечении вышеперечисленными препаратами, были получены следующие результаты (см. табл. 1).

Таблица 1 – Количественные изменения бактерий *P. aeruginosa* в ожоговой ране, КОЕ/мл

Название группы	Сутки				
	1	3	7	14	21
2 группа (без лечения)	$(2,54 \pm 0,33) \times 10^8$	$(2,16 \pm 0,2) \times 10^8$	$(3,34 \pm 0,4) \times 10^8$	–	–
3 группа («Силикс»)	$(2,6 \pm 0,27) \times 10^7$	$(2,6 \pm 0,4) \times 10^6$	$(1,8 \pm 0,21) \times 10^4$	*	*
4 группа (аппликационный сорбент)	$(2,3 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,13 \pm 0,4) \times 10^3$	$(1,38 \pm 0,2) \times 10^2$	*	*
5 группа (мазь «Сульфаргин»)	$(2,6 \pm 0,3) \times 10^6$	$(2,27 \pm 0,36) \times 10^4$	$(1,47 \pm 0,14) \times 10^3$	*	*

Примечание.

(–) животные, которые не дожили до соответствующего срока наблюдения;

(*) – *P. aeruginosa* из раны не высевалась

На 1-й день лечения (3-й после нанесения ожоговой травмы и инфицирования) у мышей 2-й опытной группы с раневой поверхности была выделена *P. aeruginosa* в количестве $2,54 \pm 0,33 \times 10^8$ КОЕ/мл. В 3-й опытной группе был обнаружена *P. aeruginosa* в количестве $2,6 \pm 0,27 \times 10^7$ КОЕ/мл. В 4-й опытной группе, получавшей аппликационный сорбент, раневая поверхность была обсеменена *P. aeruginosa* в количестве $2,3 \pm 0,3 \times 10^5$ КОЕ/мл. В контрольной группе (№ 5), которая получала мазь «Сульфаргин», синегнойная палочка была выделена в количестве $2,6 \pm 0,3 \times 10^6$ КОЕ/мл.

На 3-й день лечения (6 день после нанесения раны и инфицирования), до повторной обработки раны исследуемыми препаратами, у мышей 2-й опытной группы количество *P. aeruginosa* составило $2,16 \pm 0,2 \times 10^8$ КОЕ/мл, что было достоверно выше значений, которые были получены в других группах ($p < 0,05$), а именно, в 3-й было изолировано – $2,6 \pm 0,4 \times 10^6$ КОЕ/мл, в 4-й – $2,13 \pm 0,4 \times 10^3$ КОЕ/мл, и в 5-й – $2,27 \pm 0,36 \times 10^4$ КОЕ/мл соответственно. Важно отме-

тить, что количество микробных тел в пораженных тканях у животных, получавших разработанный нами экспериментальный препарат, становилось ниже критического уровня (10^5 КОЕ/мл). При этом у животных всех групп сохранялись признаки гнойного воспаления, но отек и количество гнойного отделяемого в ране в 3-й и 5-й группе уменьшились. У мышей четвертой группы отмечалась лишь незначительная экссудация из раны.

Через неделю после начала лечения (10 день после нанесения ожоговой травмы и инфицирования), в 4-й группе, получавшей экспериментальный аппликационный сорбент, *P. aeruginosa* была обнаружена в количестве $1,38 \pm 0,2 \times 10^2$ КОЕ/мл. Визуально гиперемия и отек раны и паравульнарной области значительно меньше, в сравнении с другими группами животных. Во 2-й опытной группе, без лечения, синегнойная палочка высевалась в количестве $3,34 \pm 0,4 \times 10^8$ КОЕ/мл, гнойное отделяемое из раны обильное. В 3-й группе микробная обсемененность составила $1,8 \pm 0,21 \times 10^4$ КОЕ/мл, в



5-й, которая получала мазь «Сульфаргин», – $1,47 \pm 0,14 \cdot 10^3$ КОЕ/мл.

На 14 сутки лечения (17 день после нанесения ожога и инфицирования раны) животные 2-й группы, которые были без лечения, не дожили до указанного срока, в то время как в остальных группах *P. aeruginosa* не была обнаружена. У мышей 4-й и 5-й экспериментальных групп раны полностью эпителизировались, тогда как у животных 3-й группы наблюдалась менее выра-

женная эпителизация с частичным сохранением струпа.

На 21 день лечения (24-е сутки после ожога и инфицирования) у животных 3-й, 4-й и 5-й экспериментальных групп штамм синегнойной палочки, использовавшийся для заражения мышей, из раны не высевался. При этом наблюдалась полная эпителизация раневой поверхности и частичное восстановление шерстяного покрова.

Висновки

Нами установлено, что у обожженных и инфицированных *P. aeruginosa* животных, лечение которых проводилось разработанным нами новым аппликационным сорбентом, микробная обсемененность раневой поверхности достоверно снижалась в сравнении с мышами, не получавшими лечения, во все сроки исследования.

У животных, получавших сорбционно-аппликационную терапию, по сравнению с традиционным лечением (мазь «Сульфаргин») быстрее снижалось количество гнойного отделяемого из ран, уменьшался отек, гиперемия и инфильтрация тканей, отмечалось более раннее

очищение ран, ускорялись репаративные процессы в ране.

Можно предположить, что более высокое ранозаживляющее действие и антибактериальный эффект нового аппликационного сорбента, применявшегося для лечения ожоговой *Pseudomonas*-инфекции, обусловлены оптимальным соотношением компонентов, входящих в его состав.

Таким образом, разработанный нами новый аппликационный сорбент нуждается в дальнейшем изучении и может являться перспективным средством для местного лечения синегнойной ожоговой инфекции.

References (список літератури)

1. Church D, Elsayed S, Reid O et al. [Burn wound infections]. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006;2(19):403–434.
2. Iman A, Hussien, Khalid A, Habib, Kifah A, Jassim Hussien [Bacterial colonization of burn wounds]. *J. Baghdad for Sci.* 2012;9(4):623 – 631.
3. Yakovlev SV. [Sovremennye problemy antibakterial'noj terapii gospital'nykh infektsij: «goryachie tochki» rezistentnosti]. *Ukrains'kij zhurnal ekstremal'noї meditsini imeni G.O. Mozhaeva.* 2005;6(1):30–38.
4. Ahmedov AA. et al [Early diagnostics and treatment with acute burn sepsis]. *Journal of Acute Disease.* 2015;4(3):214–217.
5. Shub GM, Alipov AA, Lebedev MS. i dr. [Opyt primeneniya novykh original'nykh mazej dlya lecheniya ehksperimental'noj sinegnoynoj infektsii ozhogovykh ran]. *Saratovskij nauchno-meditsinskij zhurnal.* 2011;7(2):523–525.
6. Kryukova VV, Bogomolov NI, Bogomolova NN, Kurupanov SI. [Primenenie sorbtsionnykh tekhnologij v kompleksnom lechenii gnojnykh ran]. *Sibirskij meditsinskij zhurnal (Irkutsk).* 2003;40(5):28-31.
7. Chanturiya TsK. *Sravnitel'naya otsenka ehffektivnosti antibiotikov i immunopreparatov pri profilaktike i lechenii sinegnoynoj infektsii.* Avtoref. Dis. k.m.n. Publ. M., 1982; 23-56.
8. Minukhin VV. *Mikrobiologichne obgruntuvannya rozrobki preparativ dlya profilaktiki i likuvannya sin'ognijnoї infektsii.* Dis. d-ra med. nauk: 14.02.05. Kharkiv, 1997;237-57.
9. Volyanskij YuL, Chernyavskij VI, Biryukova SV i dr. [Biologicheskaya kharakteristika i mikrobiologicheskaya identifikatsiya nefermentiruyushhikh gramotritsatel'nykh bakterij: uchebnoe posobie]. Khar'kov, 2010. 47 p.
10. *Predstavlenie o ranevom protsesse i zazhivlenii ran. Metody kontrolya techeniya i prognoza ranevogo protsessa.* Retrieved from: <http://milsurgery.com/pdf/lekcija/infekciya/ranvoy%20proces.pdf>.

(received 16.02.2017, published online 29.03.2017)

(одержано 16.02.2017, опубліковано 29.03.2017)

