

## ЛЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГНОЙНЫХ РАН ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ ФОРМАМИ АНТИСЕПТИКОВ

Григорьян А.Ю.<sup>1</sup>, Бежин А.И.<sup>1</sup>, Панкрушева Т.А.<sup>1</sup>, Затолокина М.А.<sup>1</sup>, Мишина Е.С.<sup>1</sup>  
Жиляева Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет Минздрава России», Курск, e-mail: arsgrigorian@mail.ru

В экспериментах *in vitro* изучали антимикробный спектр мази «Левомеколь» и изучаемых составов на основе Хлоргексидин биглюконата и Мирамистина. Было выполнено по 6 параллельных исследований методом диффузии в агар на плотных питательных средах с использованием тест-штаммов *St. aureus* ATCC 6538-P, *Bac. cereus* ATCC 10702, *E. coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653. Эксперименты *in vivo* были проведены на 120 белых крысах-самцах породы «Вистар» Анализ результатов показал, что разработанные нами препараты обладают широким спектром антимикробной активности в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, оказывают более выраженный лечебный эффект. Кроме того, было отмечено, что максимальная активность препарата с Хлоргесидина биглюконатом приходилась на первую фазу раневого процесса и способствовала более раннему началу регенерации, а препарат с Мирамистином был стабильно высоко активен на всех фазах раневого процесса.

Ключевые слова: гнойная рана, левомеколь, мирамистин, хлоргексидин биглюконат, заживление ран.

## TREATMENT OF EXPERIMENTAL PURULENT WOUNDS IMMOBILIZED FORM OF ANTISEPTICS

Grigoryan A.Yu.<sup>1</sup>, Bezhin A.I.<sup>1</sup>, Pankrusheva T.A.<sup>1</sup>, Zatolokina M.A.<sup>1</sup>, Mishina E.S.<sup>1</sup>,  
Zhilyaeva L.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Kursk State Medical University, Kursk, e-mail: arsgrigorian@mail.ru*

In experiments *in vitro* we studied the spectrum of antimicrobial ointment "Levomekol" and studied composition based on chlorhexidine and bigluconate Miramistin. 6 was performed parallel studies in agar diffusion method on solid nutrient media using test strains *St. aureus* ATCC 6538-P, *you. cereus* ATCC 10702, *E. coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653. In vivo experiments were carried out on 120 white male rats breed "Wistar" Analysis of the results showed that the drugs developed by us have a broad spectrum of antimicrobial activity against both gram-positive and gram-negative microorganisms, have a pronounced therapeutic effect. In addition, it was noted that the maximum activity of the preparation with chlorhexidine digluconate accounted for the first phase of wound healing and facilitated the earlier onset of regeneration, and a preparation with Miramistin was consistently highly active in all phases of wound healing.

Keywords: purulent wound levomekol, miramistin, chlorhexidine digluconate, wound healing

Одной из проблем современной хирургии является проблема лечения гнойных ран. По литературным данным гнойные осложнения составляют от 35% до 45% от всех хирургических заболеваний, доля внутригоспитальной инфекции составляет от 12% до 22%, а летальность достигает 25% [4]. За последние годы микрофлора ран и ее биологические свойства претерпели существенные изменения, проявляющиеся быстрой потерей чувствительности к современным антибактериальным препаратам [1,5]. В наших исследованиях мы убедительно доказывали, что поиск новых форм и комбинаций лекарственных субстанций является приоритетной задачей в обеспечении местного лечения гнойно-воспалительных процессов мягких тканей [2, 3].

**Цель:** изучить ранозаживляющую активность разработанных нами иммобилизованных препаратов с антисептиками Мирамистин и Хлоргексидина биглюконат в сравнительном аспекте с официальной мазью «Левомеколь».

**Материалы и методы исследования.** Материалом для исследования послужили препараты, состав которых разработан коллективом Курского государственного медицинского университета.

Состав 1: Раствор Хлоргексидин биглюконат 0,5% – 30,0 грамм, Метилурацил – 2,0 грамма, Полиметилсилоксана полигидрат – 70,0 грамм

Состав 2: Раствор Мирамистина 0,01% - 100,0 грамм, Метронидазол – 1,0 грамм, Натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы – 4,0 грамма

В экспериментах *in vitro* изучали антимикробный спектр мази «Левомеколь» и изучаемых составов 1 и 2. Было выполнено по 6 параллельных исследований методом диффузии в агар на плотных питательных средах с использованием тест-штаммов *St. aureus* ATCC 6538-P, *Bac. cereus* ATCC 10702, *E. coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653.

Эксперименты *in vivo* выполнены на 120 белых крысах-самцах породы «Вистар». Эксперимент выполнен в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, 18.03.1986).

Животным моделировалась гнойная рана по методике П.И. Толстых. Экспериментальные животные были разделены на 3 группы по 40 особей в каждой: в группе сравнения ежедневно производилась обработка ран с официальной мазью «Левомеколь». В группе опытная А ежедневно производилась обработка ран препаратом состава 1. В группе опытная В ежедневно производилась обработка ран препаратом состава 2. перевязки производили один раз в день, ежедневно в течение 10 суток.

При планиметрии гнойной раны оценивались динамика уменьшения площади и скорости заживления.

Процент уменьшения площади ран (ПУП) от исходного размера вычисляли по

формуле:

$$\text{ПУП} = \frac{S_0 - S}{S_0} \times 100\%$$

где  $S_0$  – исходный средний уровень площади на начало лечения, мм<sup>2</sup>

$S$  – средняя площадь ран на момент измерения, мм<sup>2</sup>.

Скорость заживления ран (СЗ), т.е. % уменьшения площади раны за сутки вычисляли

по формуле:

$$\text{СЗ} = \frac{\text{ПУП}_1 - \text{ПУП}_0}{T},$$

где ПУП<sub>1</sub> – процент уменьшения площади ран от исходной на момент измерения;

ПУП<sub>0</sub> – процент уменьшения площади ран при предыдущем измерении;

T – число дней между измерениями.

Течение раневого процесса у экспериментальных животных оценивали гистологическим методом. Протоколирование показателей и выведение животных из эксперимента осуществляли на 3-и, 5-е, 8-е, 10-е сутки от начала лечения. При морфометрическом исследовании на срезах гистологических препаратов при увеличении х400, производили подсчет фибробластов, гранулоцитов, лимфоцитов и макрофагов до 100 клеток, полученные результаты выражали в процентах. Далее рассчитывали клеточный индекс по формуле:

$$\text{Клеточный индекс} = (\text{Макрофаги} + \text{Фибробласты}) / (\text{Гранулоциты} + \text{Лимфоциты})$$

Клетки, расположенные в числителе, характеризуют репаративные процессы, а в знаменателе – выраженность воспалительных процессов.

Статистическую обработку проводили с использованием методов однофакторного дисперсионного анализа. Вычисляли средние величины количественных показателей (M) и среднюю ошибку средней (m). Распределение признаков определяли по критерию Шапиро-Уилка. Достоверность различий оценивали по критерию Ньюмена-Кейлса.

**Результаты исследования.** Спектр антимикробного действия препаратов различного состава в отношении вышеописанных тест-штаммов представлен в таблице 1.

Таблица 1

Спектр антимикробного действия разработанных иммобилизованных препаратов (M±m)

Исследуемый состав		Левомеколь	Состав 1	Состав 2
St. aureus ATCC 6538-P	Зона задержки роста, в миллиметрах	30,2±4,79	29,5±2,25	28,5±1,87
Bac. cereus ATCC 10702		21,7±3,01	22,7±3,05	27,0±2,19 <sup>2,3</sup>
E. coli ATCC 25922		26,5±5,01	28,9±1,12	29,2±1,47
Proteus vulgaris		26,2±5,56	26,2±2,42	24,7±1,03
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027		26,2±4,58	24,3±2,58	25,5±2,59
Candida albicans ATCC 885-653		11,7±2,07	10,6±2,33	27,7±1,63 <sup>2,3</sup>

Примечание: <sup>1</sup> - p≤0,05 при сравнении мази «Левомеколь» с составом 1; <sup>2</sup> - p≤0,05 при сравнении мази «Левомеколь» с составом 2; <sup>3</sup> - p≤0,05 при сравнении состава 1 с составом 2.

Из анализа данных, представленных в таблице 1, следует, что разработанные нами препараты обладали высоким противомикробным действием в отношении всех исследуемых тест-штаммов. При сравнении с мазью «Левомеколь» статистически значимых отличий с составом 1 выявлено не было, однако состав 2 статистически достоверно превосходил по зонам задержки роста и мазь «Левомеколь» и состав 1 в отношении Bac. aureus ATCC 10702

и *Candida albicans* ATCC 885-653. Исходные экспериментальные раны у всех животных были сопоставимы по своей площади ( $252,4 \pm 4,85 \text{ мм}^2$ ). Полученные в ходе эксперимента данные по планиметрическому методу представлены в таблице 2.

Таблица 2

Динамика площади и скорости заживления ран ( $M \pm m$ )

Группы	Показатель	Сроки наблюдения, сутки			
		3 (n=50)	5 (n=40)	10(n=20)	15 (n=10)
Сравнения	Процент уменьшения площади раны	21,2±4,84	44,9±3,52	78,4±3,07	88,9±2,13
	Скорость заживления раны, %/сут.	10,5±0,51	12,0±0,69	10,1±0,54	2,0±0,12
Опытная А	Процент уменьшения площади раны	35,6±2,64 <sup>1</sup>	54,0±2,44	91,2±1,20 <sup>1</sup>	99,7±0,10 <sup>1</sup>
	Скорость заживления раны, %/сут.	16,5±0,47 <sup>1</sup>	9,9±0,40	6,9±0,42 <sup>1</sup>	1,2±0,25
Опытная В	Процент уменьшения площади раны	30,9±4,36	52,5±3,39	88,9±2,29 <sup>2</sup>	99,5±0,05 <sup>2</sup>
	Скорость заживления раны, %/сут.	12,5±1,43 <sup>3</sup>	11,1±1,03	12,9±1,21 <sup>2,3</sup>	1,4±0,30

Примечание: <sup>1</sup> -  $p \leq 0,05$  при сопоставлении группы сравнения с опытной группой А;

<sup>2</sup> -  $p \leq 0,05$  при сопоставлении группы сравнения с опытной группой В;

<sup>3</sup> -  $p \leq 0,05$  при сопоставлении опытной группы А с опытной группой В.

С течением времени во всех группах происходило увеличение процента уменьшения площади ран. Статистически достоверные отличия между опытной группой А и группой сравнения наблюдались практически в течение всего срока эксперимента, а между опытной группой В и группой сравнения – лишь начиная с 10 суток наблюдения. Между опытными группам статистически значимых отличий выявлено не было.

Скорость заживления в опытной группе А была максимальной на отрезке 1-3 сутки ( $16,5 \pm 0,47\%$ /сутки), что достоверно превосходило значения в остальных группах, затем скорость постепенно снижалась, что указывает на максимальную активность препарата в первую фазу раневого процесса.

В свою очередь скорость заживления в опытной группе В была стабильно высокой на протяжении всего срока наблюдения, что указывает на активность препарата в первую и вторую фазу раневого процесса.

Установлено, что во всех сериях к первым суткам после моделирования раневого дефекта вся поверхность раны была покрыта массивным фибринозно-гнойными массами, в которых при микроскопии обнаруживалось большое количество погибших лейкоцитов.

Подлежащие ткани резко отечны и инфильтрированы полиморфно-ядерными лейкоцитами (ПЯЛ) и макрофагами на разных стадиях дифференцировки, пучки коллагеновых волокон в сохранившихся участках дермы разрыхлены и разделены друг от друга очагами инфильтрата и скоплениями не гемолизированных эритроцитов. Фибробласты имели резко базофильную цитоплазму и набухшие, разрыхленные ядра. Кровеносные и лимфатические сосуды расширены. Отек тканей и инфильтрат в сочетании с пропитыванием эритроцитами распространялся за пределы раневого дефекта по всей толщине дермы и переходил на гиподерму. Ближайшие к краю раневого дефекта участки эпидермиса истончены за счет отсутствия рогового и уменьшения толщины шиповатого слоев. Непосредственно под истонченными участками эпидермиса отмечались свежие кровоизлияния в виде скоплений эритроцитов с тенденцией к слиянию очагов.

Через 3-е суток после моделирования инфицированной раны у животных контрольной серии морфологическая картина регенерирующих тканей в зоне раневого дефекта выглядела следующим образом: поверхность раны покрыта фибрином, инфильтрированным ПЯЛ. В ране присутствовали зачатки грануляционной ткани, также инфильтрированной ПЯЛ. Инфильтрат распространялся за пределы интактной дермы. На тех же сроках в серии «Левомеколь» поверхность раны покрыта струпом. Под струпом – грануляционная ткань, инфильтрированная ПЯЛ. Отек дермы и клетчатки. При использовании состава 1 поверхность раны покрыта струпом с некротическими массами и нейтрофильной инфильтрацией, хорошо выражен грануляционный вал, участки нижележащей дермы отечны, инфильтрированы преимущественно нейтрофилами и макрофагами. В серии с использованием состава 2 рана была покрыта фибрином, с нечетким грануляционным валом, инфильтрированного ПЯЛ нейтрофилами. В дерме и гиподерме инфильтрация и явления отека слабо выражены.

На 5-е сутки наблюдения: в контрольной серии продолжалось развитие экссудативной фазы воспаления. Воспалительный инфильтрат выражен с тенденцией к абсцедированию, состоящий преимущественно из ПЯЛ, распространяется в глубину тканей, расслаивая при этом сохранные участки дермы. Последние – резко отечны, с явлениями лимфо- и капилляростаза. В серии «Левомеколь» рана покрыта лейкоцитарно-некротическим струпом, под струпом грануляционная ткань инфильтрированная ПЯЛ (в меньшей степени чем на 3-и сутки), признаки эпителизации отсутствуют. Глубокие участки дермы несколько отечны. При использовании состава 1 струпное покрытие раны сохраняется, под ним располагается новообразованная грануляционная ткань с хорошо выраженным неоангиогенезом, сосуды новообразованной ткани дилатированы и полнокровны. В сравнении с предыдущим сутками отек дермы уменьшен, в сосудах наблюдаются явления тромбоза и краевого стояния

лейкоцитов. Отмечаются признаки периваскулярного склероза и гиалиноза. Клеточный компонент преобладает над волокнистым, в поле зрения преобладают сегментоядерные нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты. В гиподерме крупноклеточная инфильтрация на фоне незначительного отека. В серии с использованием состава 2 грануляционная ткань покрыта фибрином и достаточно четко отграничена грануляционным валом. В грануляционной ткани наблюдаются ярко выраженные процессы неоангиогенеза. В сосудах наблюдаются явления тромбоза, капилляростаза и полнокровия. Грануляционная ткань инфильтрирована нейтрофилами, лимфоцитами и макрофагами.

На 8-е сутки эксперимента: в серии «Левомеколь» на поверхности раны лейкоцитарно-некротический струп присутствует частично. Дно раны выполнено полноценной грануляционной тканью, богатой кровеносными сосудами. Фибробласты соединительной ткани разнообразной отростчатой формы, располагаются тяжами, окружая кровеносные сосуды. Отмечаются признаки краевой эпителизации. При использовании «NaKMЦ+Мирамистин» рана покрыта небольшим количеством грануляционной ткани, которая слабо инфильтрирована нейтрофилами. В подлежащей дерме наблюдается формирование соединительнотканного рубца, который незначительно инфильтрирован лимфоцитами и нейтрофилами. В поверхностных слоях новообразованной соединительной ткани волокнистый компонент преобладает над клеточным. В гиподерме клеточная инфильтрация сохранена. В серии с использованием состава 2 в поверхностных слоях раневого дефекта сохраняются лишь незначительные участки грануляционной ткани. Расположенная под ней новообразованная соединительная ткань хорошо васкуляризована, клеточная инфильтрация менее выражена, чем при использовании состава 1, явления тромбоза и капилляростаза сохранены. Наблюдаются признаки краевой эпителизации раны.

На 10-е сутки наблюдений в препаратах контрольной серии продолжалось заполнение раневого дефекта грануляционной тканью, которая местами была покрыта фибриновыми наложениями. Инфильтрат распространялся на всю глубину грануляций. Отмечались признаки краевой эпителизации. В серии «Левомеколь» происходит формирование эпителиального вала на границе раневого дефекта. Грануляционная ткань четко отграничена от интактной дермы и инфильтрирована ПЯЛ. При использовании состава 1 грануляционная ткань практически отсутствует. Хорошо выражены признаки краевой эпителизации раны. Раневой дефект заполнен практически полностью созревшей новообразованной хорошо васкуляризованной соединительной тканью, в которой сохранена полиморфноклеточная инфильтрация на фоне существенного преобладания волокнистого компонента над клеточным. При использовании состава 2 хорошо выражены признаки эпителизации раны. Инфильтрация поверхностных слоев дермы сохранена. Новообразованная соединительная

ткань хорошо васкуляризована, признаков отека нет. Реактивные изменения менее выражены. Участки регенерировавшего эпителия без выраженных морфологических изменений.

На 15-е сутки: в препаратах контрольной серии продолжается процесс эпителизации раневого дефекта, однако сохраняется умеренная инфильтрация подлежащих тканей. Полной эпителизации раны не происходит. В серии «Левомеколь» раневой дефект полностью выполнен пучками незрелых коллагеновых волокон. Поверхность раневого дефекта покрыта эпидермисом, имеющим полнослойную организацию.

При использовании состава 1 наблюдается полная эпителизация раневого дефекта. Регенерировавший эпителий без особенностей. В дерме, непосредственно в области ранее существовавшего раневого дефекта, общая площадь новообразованной соединительной ткани значительно больше, чем в серии состава 2. В дерме хорошо выражена краевая регенерация фолликулярных фолликулов с постепенным их подрастанием к центральной области ранее существовавшего раневого дефекта, постепенно происходит полное восстановление структурной организации поверхностных и глубоких слоев дермы. При использовании состава 2 наблюдается полная эпителизация раневого дефекта. Общая площадь новообразованной соединительной ткани, в области ранее существовавшего раневого дефекта, существенно меньше, чем при использовании состава 1.

По данным представленным в таблице 2 можно заключить, что статистически достоверное преобладание фибробластов над остальными клеточными элементами раньше всего отмечалось в опытной группе А (на 5 сутки), что свидетельствовало о высокой регенераторной активности препарата состава 1 в первую фазу раневого процесса. Однако начиная с 8 суток максимальные значения фибробластов отмечались в опытной группе В по сравнению с остальными сериями. Кроме того, уменьшение количества макрофагов (по отношению к лимфоцитам) раньше всего происходило в опытной группе А (на 3 сутки), в опытной группе В – на 3-5 сутки, а в группе сравнения – на 8-10 сутки. Данные обстоятельства также свидетельствуют о более ранней смене фаз раневого процесса.

**Выводы.** Анализ результатов показал, что разработанные нами препараты обладают широким спектром антимикробной активности в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, оказывают более выраженный лечебный эффект. Кроме того, было отмечено, что максимальная активность препарата с Хлоргесидина биглюконатом приходилась на первую фазу раневого процесса и способствовала более раннему началу регенерации, а препарат с Мирамистином был стабильно высоко активен на всех фазах раневого процесса.

### **Список литературы**

1. Алексеева Н. Т. Отдаленные результаты регенераторного процесса в коже при заживлении асептических ран // Журнал анатомии и гистопатологии. - 2012. - Т. 1. - № 2. - С. 15–18.
2. Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Чекмарева М.С., Мишина Е.С., Жилиева Л.В. Раневое покрытие с хлоргексидина биглюконатом и метронидазолом для лечения ран // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 4-4. – С. 694-697.
3. Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Кобзарева Е.В., Жилиева Л.В., Мишина Е.С. Морфологическое обоснование применения некоторых антисептиков в лечении ран. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2015. - Т.10. - № 3. - С.292-95. DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2015.10068>.
4. Жилина С.В., Миронов А.Ю., Поликарпова С.В. Стрептококки в этиологии гнойно - воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей // Курский науч.- практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2009. - №2. – С. 46-53.
5. Плотников Ф.В. Комплексное лечение пациентов с гнойными ранами в зависимости от способности микроорганизмов-возбудителей формировать биопленку // Новости хирургии. – 2014. - №22(5). – С. 575-581.