

ID: 2011-02-24-A-1252

Оригинальная статья

Шуб Г.М., Алипов В.В., Шаповал О.Г., Беляев П.А.

**Микробиологическая оценка результатов лечения ожоговых ран
кожи в эксперименте***ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздравсоцразвития России***Резюме**

В работе дана микробиологическая оценка результатов лечения ожоговых ран кожи в эксперименте. Примененные способы местного лечения ран способствуют положительной динамике их микробного очищения, которое более выражено при воздействии ультрадисперсного порошка меди и применении мази «Левомеколь».

Ключевые слова: ультрадисперсный порошок меди, мазь "Левомиколь"

Введение

Стафилококки наряду со стрептококками и рядом грамотрицательных бактерий, в том числе синегнойной палочкой, занимают лидирующие позиции в этиологической структуре инфекций ожоговых ран. Так в отделении реанимации ожоговых больных клинической больницы №1 им. С.В. Очаповского г. Краснодара (2010 г.) основными возбудителями ожоговой раневой инфекции выступают *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* (на долю каждого вида приходится по 22%) наряду с *Acinetobacter baumannii* (18,98%) и *Enterococcus faecalis* (6,63%). Распространение антибиотикоустойчивых штаммов среди возбудителей инфекции, в том числе и раневой, является актуальной проблемой в ведении ожоговых больных. Российские национальные рекомендации «Хирургические инфекции кожи и мягких тканей» (2009 г.) свидетельствуют, что в России частота выделения метициллинорезистентных стафилококков составляет в среднем 65%, а среди грамотрицательных бактерий (прежде всего *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*) частота выделения штаммов, продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра, достигает 50%.

Первичный скрининг антимикробной активности и доклинические испытания вновь синтезированных соединений достаточно трудоемок и длителен, в связи с этим поиск новых способов воздействия на микроорганизмы представляет несомненный теоретический и практический интерес. К таким способам можно отнести применение нанопорошков металлов и лазерного излучения, действие которых на прокариотические и эукариотические клетки изучается на современном этапе.

Цель исследования – микробиологическая оценка эффективности применения ультрадисперсного порошка меди и лазерного облучения в местном лечении инфицированных ожоговых ран кожи.

Материалы и методы

Двадцати белым беспородным крысам-самцам массой 190 ± 20 г под эфирным наркозом в межлопаточной области создавали ожоговые раны IIIБ степени с помощью металлического предмета с температурой нагрева 220°C и временем контакта 14 с. Площадь раны составила 40 мм^2 . На 3 сутки раны инфицировали 2×10^7 КОЕ суточной агаровой культуры клинического штамма *Staphylococcus aureus*, выделенного из гнойного отделяемого раны больного, находившегося на лечении в клинической больнице №2 г. Саратова. Животных разделили на 4 группы, по 4 крысы в каждой. Через 3 суток после инфицирования приступали к лечению. Крысы первой группы получали лечение ультрадисперсным порошком меди, 1 мг которого в виде суспензии наносили на рану, второй группы – лазерным облучением, третьей группы – мазью «Левомеколь». Четвертая группа оставалась без лечения. При выборе дозы ультрадисперсного порошка меди мы руководствовались данными О.А. Богословской и соавторов (2007), согласно которым фармакотоксическое действие его в организме животных проявляется в дозе более 25 мг/кг. Нанопорошки меди любезно предоставлены кафедрой аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского.

Лечение животных четвертой группы проводилось двухканальным лазером «Матрикс» с лазерной головкой непрерывного лазерного излучения (КЛО4). Мощность излучения 10 мВт, экспозиция 3 минуты, проведено 7 сеансов (через день лечения). Лечение проводили 1 раз в сутки в течение 14-и суток.

Перед началом лечения, на 7 и 12 его сутки осуществляли забор отделяемого ран, по 0,1 мл которого из разведения 10^{-2} заседали на мясо-пептонный агар с последующим подсчетом числа выросших колоний. С учетом полученных значений рассчитывали количество КОЕ *S. aureus* (n) в 1 мл гнойного отделяемого.

Статистическую обработку проводили путем определения достоверности различий между найденными значениями n с вероятностью 99% (при $p < 0,01$ различия считали достоверными, $p > 0,01$ - недостоверными).

Результаты

При прослеживании динамики микробного обсеменения ран животных в первой группе установлено, что на 7 сутки лечения у трех животных отмечалось существенное изменение n (по сравнению с его значениями до начала лечения): снижение в 4,6 раза (с 4600 до 1000, $p < 0,01$), возрастание в 3,3 раза (с 39.100 до 130.300, $p < 0,01$) и 1,3 раза (с 173.800 до 227.500, $p < 0,01$). У третьего оно снизилось в 1,1 раза (с 22.400 до 20.200, $p > 0,01$). На 12 день значения n существенно снизились у всех животных от 6,7 до 568 раз.

Во второй группе на 7 день лечения у одного животного отмечалось снижение значения n в 3,25 раза (с 2600 до 800, $p < 0,01$), у двух – возрастание в 2,9 (с 81.800 до 234.000, $p < 0,01$) и 1,6 раза (с 126.800 до 200.500, $p < 0,01$). У третьего оно снизилось в 1,1 раза (с 71.100 до 63.700), однако недостоверно ($p > 0,01$). На 12 день лечения отчетливо прослеживалось снижение n у половины животных: в 2,4 раза - с 63.700 до 26.600 ($p < 0,01$) и 5,6 раза – с 200.500 до 35.600 ($p < 0,01$), в то время как у остальных оно достоверно возросло в 2,25 раза и 1,3 раза (n 1.800 и 314.000, $p < 0,01$).

В третьей группе показатели n снизились к 7 дню лечения в 47,3 (с 37.800 до 800, $p < 0,01$), 40,4 (с 177.900 до 4.400, $p < 0,01$), 5,8 (с 40.200 до 7000, $p < 0,01$) и 3,5 раза (с 18400 до 5200, $p < 0,01$), а концу периода наблюдения – в 8, 22, 14 и 17,3 раза соответственно.

В контрольной группе у двух животных отмечалось существенное нарастание обсемененности ран стафилококком на 10 день после инфицирования (что соответствует 7-му дню лечения) в 0,5 раза (с 105.700 перед началом лечения до 149.800, $p < 0,01$) и в 2,2 раза (с 35.100 до 78.500, $p < 0,01$). У третьего животного она существенно не изменилась (8.400 и 8.700 соответственно, $p > 0,01$), а у четвертого – снизилась по сравнению с этими показателями до начала лечения в 3 раза (с 81.500 до 26.600, $p < 0,01$). Однако к 12-му дню наблюдения у первых двух животных значения n существенно снизились – в 8 и 130 раз (до 17.200 и 600, $p < 0,01$), а двух оставшихся – существенно возросли в 2 и 3,8 раза (до 33.800 и 55.400, $p < 0,01$).

В связи с тем, что до начала лечения уровень обсемененности ран *S. aureus* отличался у животных не только разных групп, но и в пределах одной группы, критериями эффективности лечения мы выбрали полное микробное очищение ран на конец периода наблюдения (12 день) (n менее 5.000).

Согласно полученным данным, этому критерию удовлетворяли первая (n от 400 до 4200) и третья (n от 100 до 500) группы. Во второй и четвертой группах обсемененность ран *S. aureus* сохранялась на высоком уровне.

Отмечалась связь микробиологических показателей с данными внешнего осмотра. На конец периода наблюдения все крысы были активны, но состояние ран имели различия: в контрольной группе у большинства животных сохранялось мокнутие с лишь незначительным отторжением струпа, под которым разрастание грануляционной ткани было еще не выражено. Во второй группе в отличие от контроля наблюдалось более выраженное формирование грануляционной ткани, при этом в последней группе появились четкие признаки краевой эпителизации. В первой и третьей группах отмечалось практически полное отторжение струпа и заполнение дефекта

грануляционной тканью со значительной эпителизацией.

Обсуждение

Наблюдаемое снижение стафилококковой обсемененности ран у животных, получавших лечение ультрадисперсным порошком меди, может быть обусловлено имеющимися в литературе данными о способности наночастиц меди повреждать цитоплазматические мембраны, вызывая выход из клетки ионов калия, что, очевидно, ведет к дальнейшему цитолизу (Лебедев В.С. и соавторы, 2002 г.). О мембранотропном действии нанопорошков меди свидетельствуют и данные иностранных авторов, согласно которым ионы меди служат причиной повреждения фосфолипидного слоя мембран, окислительного стресса, истощения глутатиона как важного компонента антиоксидантной защиты клеток, повреждения SH-групп геномных ферментов и разрывов ДНК (M. Valko et al., 2005; Priyanka Gajjar et al; Wei Jiang et al., 2010).

О механизме антимикробного действия лазера существуют различные данные, свидетельствующие как о его стимулирующем, так и подавляющем действии на прокариотические и эукариотические клетки, зависящие во многом от параметров излучения. В то же время ряд авторов свидетельствует о необходимости использования фотосенсибилизаторов для повышения чувствительности микроорганизмов к лазерному излучению низкой интенсивности, ибо оно само по себе не проявляет антимикробной активности, в том числе и в отношении стафилококков (Червинец В.М. и соавт., 1999 г.). Отсутствие эффективности применения лазерного облучения в нашем случае при лечении стафилококковой инфекции ожоговых ран требует пересмотра выбранных нами параметров и поиска новых способов стимуляции его антимикробного действия.

Заключение. Представленные данные позволяют считать, что развитие экспериментальной инфекции при одинаковом микробном инфицировании имеет определенное своеобразие, обусловленное особенностями конкретного макроорганизма, что нашло отражение в разном уровне обсеменения ран опытным штаммом. Примененные способы местного лечения ран способствуют положительной динамике их микробного очищения, которое более выражено при воздействии ультрадисперсного порошка меди и применении мази «Левомеколь».