

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ СРЕДСТВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАН, ПРИЧИНЕННЫХ УКУСАМИ СОБАК

Зиновьев Е.В.<sup>1</sup>, Костяков Д.В.<sup>1</sup>, Цветкова А.А.<sup>2</sup>, Руссу И.И.<sup>1</sup>, Васильева А.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет, Санкт-Петербург, Россия (194100 Россия, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2), e-mail: evz@list.ru;

<sup>2</sup>ФГБ ВО УВПО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6)

Проблема эффективного лечения ран, причиненных укусами собак, остается весьма актуальной. Важная роль в системе хирургического лечения таких повреждений принадлежит их местному медикаментозному лечению. Целью работы являлось выявление особенностей течения репаративных процессов в ранах у мелких лабораторных животных, механизм нанесения которых соответствовал укусам собак. В эксперимент включены 36 крыс весом от 150 до 200 грамм. Рана моделировалась путем кругового отсечения кожного покрова диаметром 5 см до фасции. На область дефекта наносилась питательная среда, содержащая высокий титр микроорганизмов, наиболее часто выделяющихся из ран, причиненных укусами собак. Животные разделены на 6 групп с учетом местного лечения: I группа – контрольная, II группа сравнения – мазь левомеколь, III группа сравнения – гель пронтосан, IV группа сравнения – раствор химотрипсина, V опытная группа – гель «Энтомикс», VI опытная группа – гель карбополов. Биопсия и сравнительное микроскопическое исследование на 6, 13, 18 сутки. При морфологическом анализе процессов регенерации в ранах, моделирующих укусы собак, у 6 групп животных выявлены существенные особенности в скорости очищения от лейкоцитарно-некротического слоя и купирования воспалительных процессов, сроках начала созревания соединительной ткани и ее дифференцировки, а также процессов эпителизации. Наибольшую эффективность продемонстрировали препараты опытной группы (гели карбополов и гель «Энтомикс»), позволившие очистить экспериментальные раны от лейкоцитарно-некротических масс уже к 10 суткам, обеспечить их заживление уже на 15-16 сутки. Констатировано синхронное развитие эпителиального и соединительнотканых компонентов в зоне дефекта, заживление с минимальным рубцеванием.

Ключевые слова: гнойная рана, укусы собак, очищение ран, регенерация, антисептические препараты, левомеколь, пронтосан, химотрипсин, энтомикс, карбополы.

## EXPERIMENTAL EVALUATION WOUND-HEALING AGENT TO TREAT WOUNDS CAUSED BY A DOG BITE

Zinoviev E.V.<sup>1</sup>, Kostyakov D.V.<sup>1</sup>, Tsvetkova A.A.<sup>2</sup>, Russu I.I.<sup>1</sup>, Vasilieva A.G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia (194100 Russia, Saint-Petersburg, street Litivskaya, 2), e-mail: evz@list.ru;

<sup>2</sup>St. Petersburg Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia (194044, St. Petersburg, Lebedeva street, 6)

The problem of effective treatment of wounds caused by dog bites, is very important. Important role in the surgical treatment of injuries belongs to their local medical treatment. The aim of the work was to identify characteristics of the course of reparative processes in wounds from small laboratory animals, which are consistent with the mechanism of applying the dog bite. The experiment included 36 rats weighing 150 to 200 grams. The wound was simulated by a circular cut-off of the skin with a diameter of 5 cm to the fascia. In the area of the defect was applied to a medium containing a high titer of microorganisms, most commonly released from the wounds caused by dog bites. Animals are divided into 6 groups based on local treatment: I group - control, II comparison group - maz levomekol, III group - gel prontosan, IV control group - a solution of chymotrypsin, V experienced group - gel "Entomiks", VI experienced group - gel Carbolopol. Biopsy and comparative microscopic examination at 6, 13, 18 hours. Morphological analysis of the regeneration processes in the wounds, simulating dog bites in 6 groups of animals revealed significant features in the rate of purification of leukocyte-necrotic layer and the relief of the inflammatory process, the timing of the beginning of the maturation of the connective tissue and its differentiation, as well as the processes of epithelialization. The greatest efficiency of the test group showed drugs (Carbolopol gels and gel "Entomiks") will clean the experimental wounds from leukocyte-necrotic masses have 10 days to ensure their healing already in 15-16 hours. Stated synchronous development of epithelial and connective tissue components in the area of defect healing with minimal scarring.

Keywords: purulent wound, dog bites, wound cleansing, refreshing, antiseptic preparations, levomekol, prontosan, chymotrypsin, entomiks, carbolopols.

Проблема эффективного лечения ран, причиненных укусами собак, остается весьма сложной в практике хирурга [3]. На протяжении всего периода развития и становления хирургии специалисты находятся в поиске эффективных методов борьбы с раневой инфекцией при повреждениях, нанесенных собаками [2]. В XXI веке патогенетически-обоснованные технологии позволили существенно улучшить результаты лечения гнойных, длительно-незаживающих ран, в т.ч. причиненных и укусами этого вида животных [7].

Важная роль в системе хирургического лечения ран, причиненных укусами собак, принадлежит их местному медикаментозному лечению [6]. Дифференцированное применение современных антисептических препаратов позволяет значительно сократить частоту развития инфекционных осложнений, вторичной инфекции и общие сроки восстановления в таких ранах [5]. В настоящее время, согласно проведенному ретроспективному анализу результатов оказания медицинской помощи таким пострадавшим в Ленинградской области, наиболее часто с этой целью используемыми являются растворы хлоргексидина, фурацилина и калия перманганата. Хлоргексидин активен в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также простейших. Эффективность данного препарата снижается в присутствии крови, гноя [13]. Механизм антисептического действия заключается во взаимодействии с фосфатными группами клетки, приводя к смещению осмотического равновесия, нарушению целостности и гибели клетки. Использование раствора калия перманганата и фурацилина в качестве антисептического препарата для обработки ран, причиненных укусами животных в современных условиях не эффективно. Исследование чувствительности микроорганизмов к данным препаратам показало, что в растворе фурацилина вид *Pseudomonas aeruginosa* сохраняется в количестве  $10^6$  КОЕ/мл, а частота выделения устойчивых штаммов *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., составляет 89,6 и 100% соответственно [9]. Микроорганизмы рода *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, которые часто встречаются при укусах животных, в настоящее время нередко являются микробами-контаминантами раствора калия перманганата, что подтверждает нецелесообразность применения данного антисептического раствора для лечения таких повреждений [11].

Один из путей улучшения результатов лечения гнойных ран, в т.ч. и причиненных укусами животных, предусматривает создание влажной среды в зоне повреждения. Применение гелей карбополов, образующих влажную среду в области раны, для местного лечения пострадавших от укусов собак, позволяют создать наиболее оптимальные условия для элиминации микроорганизмов из очага поражения и течения репаративных процессов. Механизм действия данных препаратов основан на создании оптимальной влажной среды на поверхности раны в фазу воспаления, что приводит к более эффективной работе

протеолитических ферментов и системы иммунитета, способствует скорейшему аутолитическому очищению и приводит к снижению микробной контаминации [12]. Влажная среда на поверхности повреждения в фазу регенерации способствует миграции макрофагов в рану и продуцированию ими факторов роста. В результате активируются процессы фиброплазии и ангиогенеза. Эпителизация повреждения ускоряется за счет адекватной работы факторов роста и миграции эпителия во влажной среде от периферии раны к ее центру [4].

Новые возможности для лечения повреждений, причиняемых животными, является использование биологических методов. Один из эффективных способов ускоренного очищения ран от некротических тканей основан на применении стерильных личинок (опарышей) определённых видов мух (родов *Lucilia*, *Calliphora* и др.) – «Maggot» терапия. Механизм действия «Maggot» терапии основан на взаимодействии микроорганизмов с антимикробными пептидами, выделяемыми насекомыми. Данные вещества способны воздействовать на грамотрицательные, грамположительные бактерии, грибы, вирусы и простейших. Также антимикробные пептиды способны проявлять антимикробную активность к штаммам антибиотико-резистентных микроорганизмов. Пептиды, выделяемые опарышами, действуют на отрицательно заряженную внешнюю мембрану бактерий, вытесняя ионы магния и либо прочно связываются с отрицательно заряженным липополисахаридом, либо нейтрализуют отрицательный заряд на поверхности мембраны, нарушая ее структуру и проникая внутрь периплазматического пространства. Цитоплазматическая мембрана бактерий также заряжена отрицательно. Антимикробные пептиды способны также встраиваться в цитоплазматическую мембрану и меняя свою конформацию образовывать структуры, нарушающие целостность клетки. Кроме того, проникая в цитоплазму микроорганизма или другого паразита, пептиды, имея положительный заряд, вступают во взаимодействия с полианионами.

Исследование ряда авторов показывают, что синтезируемые антимикробные пептиды не способны заменить антибиотики, так как патогенные микроорганизмы имеют множество способов нейтрализовать их (мутация целевых структур, снижение проницаемости клеточных мембран, увеличение заряда мембраны и т.д.) [8]. Но данные утверждения невозможно применить к антимикробным пептидам природного происхождения, так как штаммы микроорганизмов не имеют возможность к защите от данных веществ. По предположению авторов, в отличии от синтезируемых антимикробных пептидов, пептиды природного происхождения взаимодействуют с клетками бактерий не по одному, а группой связанных, активных молекул. Это свойство помогает сохранять высокую антибактериальную активность, даже к резистентным штаммам [10].

Препаратом, в основе которого содержится природный антимикробный пептид, выделяемый опарышами, является гель «Энтомикс». Данный препарат содержит уникальный биологический комплекс Flip7. Flip7 – комплекс пептидов, синтезируемый клетками насекомых, который не содержит искусственных добавок. «Энтомикс» демонстрирует высокую эффективность в лечении гнойно-некротических поражений, в т.ч. и при диабетической стопе.

Целью работы являлось выявление особенностей течения репаративных процессов ран у мелких лабораторных животных, воспроизводимых по типу укусов, с учетом выбора методики местного лечения.

#### Материалы и методы

В эксперименте участвовало 36 мелких лабораторных животных весом от 150 до 200 грамм. Рана воспроизводилась путем кругового отсечения кожи спины диаметром 5 см до фасции. На область дефекта наносили питательную среду, содержащую высокий титр микроорганизмов, выделяемых из ран, причиненных собаками. Данная среда содержала представителей рода *Pasteurella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Prevotella*. В экспериментах использовались гели редкосшитых акриловых полимеров (карбополы), а также гель, содержащий природные антимикробные пептиды, выделяемые насекомыми («Энтомикс»). В качестве препаратов сравнения применяли мазь «Левомеколь», которая широко используется в практике стационаров, различного профиля и ранга. Также в данную группу были включены гель «Пронтосан», позволяющий создать влажную среду в ране и фермент «Химотрипсин». В контрольной группе местное лечение повреждения не проводилось. Животные были разделены на 6 групп по 3 крысы: I группа – контрольная, II группа сравнения – мазь «Левомеколь», III группа сравнения – гель «Пронтосан», IV группа сравнения – раствор фермента «Химотрипсин», V опытная группа – гель «Энтомикс», VI опытная группа – гель карбополов. Ежедневно проводилась перевязка лабораторных животных с использованием перечисленных лекарственных препаратов. Биопсия и сравнительное микроскопическое исследование выполнено на 6, 13, 18 сутки. Биоптаты изучены методами светооптической микроскопии. Результаты обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики.

#### Результаты исследования и их обсуждение

В условиях экспериментального повреждения, все препараты, используемые для местного лечения, в различной степени позволили ускорить заживление раны (табл. 2, рис. 1). Однако выраженность дифференцировки тканей и синхронность протекающих процессов регенерации и эпителизации существенно отличались среди групп сравнения. Гели карбополов и «Энтомикс» оказались наиболее эффективными и позволили сократить сроки

заживление раны на 30%. Менее эффективным было применение мази «Левомеколь», геля «Пронтосан» и фермента «Химотрипсин». Эти средства позволили ускорить процесс регенерации экспериментальной раны на 13-17%. Уже на первые сутки были отмечены различия в течение типовых раневых процессов в контрольной группе и ранах, лечение которых велось с использованием ранозаживляющих препаратов. В опытной группе на поверхности повреждения формировался тонкий, белесовато-серый струп, плотно прилегающий к её дну и не спаянный с ним. Отделяемое из ран было серозным. В то же время в группе сравнения и контроле образовывались струпы коричневого цвета, толстые, с неровными краями и многочисленными дефектами. Отделяемое из ран носило гнойный характер. Процесс очищения ран от лейкоцитарно-некротических масс в контрольной группе (без лечения), а также у крыс группы сравнения (мазь «Левомеколь», гель «Пронтосан», фермент «Химотрипсин»), происходило на 9-13 сутки, тогда как под влиянием гелей карбополов и «Энтомикс» сроки очищения статистически значимо сокращались в среднем на 24% (табл. 1).

При морфологическом анализе процессов регенерации в ранах, моделирующих укусы собак, выявлены различия в течении процессов репарации. Регенерации у животных контрольной группы и крыс, на раны которых наносилась мазь «Левомеколь», гель «Пронтосан» и фермент «Химотрипсин» начиналась лишь на 11-13 сутки, в то время как в опытной группе (гель редкосшитых акриловых полимеров, гель «Энтомикс») рана начинала регенерировать уже на 10 сутки. В отличие от опытной группы (гель редкосшитых акриловых полимеров, гель «Энтомикс»), в которой рост соединительной ткани и эпителизации проходил синхронно, а также имели выраженную дифференцировку клеток, в группе сравнения (так же как и при нелеченых ранах контрольной группы) данные процессы протекали разобщенно, клетки имели низкую дифференцировку, что приводило к заживлению раны с образованием грубого рубца.

Таким образом, гели карбополов и «Энтомикс» оказались более эффективными для лечения повреждений, причиненных собаками. Применение данных ранозаживляющих средств позволяет сократить сроки очищения ран и их эпителизации. Использование препаратов, позволяющих ускорить процесс очищения в повреждениях, причиненных собаками, позволяет улучшить результаты заживления, а также предотвратить развитие раневой инфекции [1]. Влажная среда, создаваемая гелем карбополов и «Энтомикс», позволяет заживать повреждениям в наиболее оптимальных условиях, в кратчайшие сроки и с минимальным рубцеванием ран. Проведенное исследование свидетельствует о перспективности внедрения препаратов опытной группы (гелей карбополов и «Энтомикс») в систему хирургического лечения пострадавших от укусов собак. Рассмотренные

лекарственные средства позволят повысить эффективность оказания медицинской помощи и сократить сроки госпитализации данного контингента пострадавших.

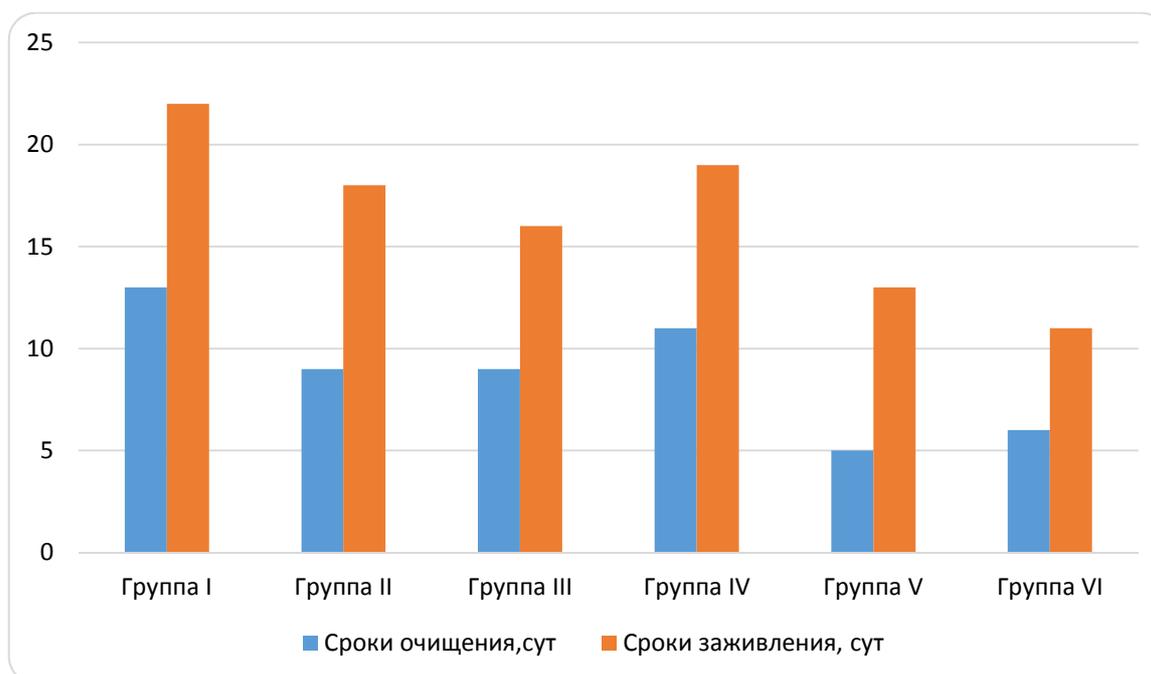


Рис.1. Сравнение сроков заживления и очищения экспериментальных ран с учетом применения различных лекарственных средств

**Таблица 1**

Влияние местных ранозаживляющих средств на сроки очищения ран от лейкоцитарно-некротических масс

Группы исследования	Сроки очищения, сут.
I контрольная группа	13 ± 0,8
II группа сравнения – мазь «Левомеколь»	12 ± 0,3
III группа сравнения – гель «Пронтосан»	11 ± 0,6
IV группа сравнения – фермента «Химотрипсин»	12 ± 0,8
V опытная группа – гель «Энтомикс»	10 ± 0,6
VI опытная группа – гель карбополов	10 ± 0,4

**Таблица 2**

Влияние местных ранозаживляющих средств на сроки заживления ран

Группы исследования	Сроки заживления, сут.
I контрольная группа	22 ± 0,6
II группа сравнения – мазь «Левомеколь»	20 ± 0,5
III группа сравнения – гель «Пронтосан»	18 ± 0,6
IV группа сравнения – фермент «Химотрипсин»	20 ± 0,5
V опытная группа – гель «Энтомикс»	16 ± 0,5
VI опытная группа – гель карбополов	15 ± 0,5

### Список литературы

1. Брайловская Т.В. Комплексная морфофункциональная характеристика результатов хирургического лечения пациентов с повреждением мягких тканей лица / Т.В. Брайловская //

Стоматология. – 2005. – № 4. – С. 35 – 40.

2. Булыгин Г.В. Возможности повышения эффективности терапии гнойной хирургической инфекции / Г.В. Булыгин, Н.И. Камзалакова, Ю.Р. Солончук // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2010. – № 5. – С. 65 – 71.

3. Звездина М.В. Местное лечение пострадавших с укушенной травмой с применением биологически активных повязок и их влияние на гемореологический статус / М.В. Звездина, И.Ю. Клюквин, В.Б. Хватов и соавторы // Скорая медицинская помощь. – 2009. – Т. 10. – № 2. – С. 74 – 77.

4. Ларичев А.Б. Вакуум-терапия в комплексном лечении гнойных ран / А.Б. Ларичев, А.В. Антонюк, В.С. Кузьмин // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2008. – № 6. – С. 22 – 26.

5. Левчук И.П. Лечение ран на этапах медицинской эвакуации / И.П. Левчук, М.Б. Костюченко, А.П. Назаров // Эффективная фармакотерапия. – 2012. – № 28. – С. 36 – 41.

6. Петров С.В. Сравнительная характеристика диоксидина и хлоргексидина при лечении больных с флегмонами / С.В. Петров, В.О. Срабионов, А.Н. Липини соавторы // 2-ой Международный конгресс, посвященный 70-летию Института хирургии им. А.В. Вишневского. – М., 2014. – С. 293 – 295.

7. Размахнин Е.В. Оригинальная методика вакуум-инстилляционной терапии при гнойных ранах / Е.В. Размахнин, М.В. Максименя, Б.Д. Губаева и соавторы // 2-ой Международный конгресс, посвященный 70-летию Института хирургии им. А.В. Вишневского. – М., 2014. – С. 305 – 308.

8. Gottrup F. Antimicrobials and nonhealing wounds — evidence, controversies and suggestions / F. Gottrup, J. Apelqvist T., Bjansholt // J. Wound Care. – 2013. – Vol. 22 (5). – pp. S1 – S92.

9. Kesting M.R. Animal bite injuries to the head: 132 cases / M.R. Kesting, F. Holzle, C. Pox // Br. J. Oral. Maxillofac. Surg. – 2006. – Vol. 44 (3). – pp. 235 – 239.

10. Leaper D. Economic and clinical contributions of antimicrobial barrier dressings: a strategy for the reduction of surgical site infections / D. Leaper, J. Nazir, C. Roberts et al // J. Med. Economics. – 2010. – Vol. 13 (3). – pp. 447 – 452.

11. Lebeau J. Facial injuries treated in the Grenoble University Hospital / J. Lebeau // Epidemiological review. Rev Stomatol. Chir. Maxillofac. – 2006. – № 107 (1). – pp. 23 – 29.

12. Nakamura Y. Use of appropriate antimicrobials in wound management / Y. Nakamura, M. Daya // Emerg. Med. Clin. North. Am. – 2007. – Vol. 25. – pp. 159 – 176.

13. Torpy J.M. Torpy Wound Infections / J.M. Torpy // Journal of American Medical Association. – 2005. – Vol. 294 (16). – pp. 2122.

**Рецензенты:**

Дергунов А.В., д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург;

Кузьмичев А.С., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии Санкт-петербургского государственного педиатрического медицинского университета, г. Санкт-Петербург.