

УДК: 615.272.4:615.451.1

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ НОВОЇ КОМБІНОВАНОЇ МАЗІ НА МОДЕЛІ ГНІЙНОЇ РАНИ СТАФІЛОКОКОВОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Ткачова О. В.

Національний фармацевтичний університет
e-mail: tkachevaov@gmail.com

Важливою проблемою сучасної клінічної хірургії є локальні гнійно-запальні захворювання та післяопераційні ускладнення, лікування яких включає як хірургічне втручання, так і місцеву фармакотерапію мазями. Арсенал лікарських препаратів для лікування ран досить численний, але вузькоспрямована фармакологічна дія одних та недостатня ефективність у інших спонукала до пошуку нових ефективних препаратів, які мають багатофункціональний коригуючий вплив на основні ланки ранового процесу. Беручи до уваги розповсюдженість гнійних патологій і недостатню кількість комбінованих мазей, що мають багатофункціональний вплив на запалення, інфекцію та пошкодження тканин, вченими НФаУ було розроблено нову комбіновану мазь, до складу якої увійшли: етакридина лактат, густий екстракт хлорофіліпту, декспантенол, ПЕГ-основа II покоління з помірною дегідратуючою активністю (180%) [1]. Завдяки діючим компонентам та основі, спектр фармакологічної дії мазі «Філетол» відповідає вимогам місцевої терапії у II фазі ранового процесу (протимікробна, протизапальна, репаративна та помірна дегідратуюча дії). Нову мазь також можна буде застосовувати у I фазі ранового процесу, якщо рана містить незначну кількість гнійного ексудату або його взагалі не містить. Встановлена у мікробіологічних дослідженнях *in vitro*, проведених проф. Н. І. Філімоною зі співавт. [1] виражена антимікробна активність мазі «Філетол» по відношенню до *S. aureus* (діаметр затримки росту складає 24,8 мм), а також широке розповсюдження стафілокової інфекції у структурі хірургічних захворювань [2-4] стало передумовою для дослідження антимікробної дії препарату в умовах *in vivo*.

Метою роботи стало вивчення антимікробної активності нової мазі «Філетол» на моделі гнійної рани стафілокової етіології відповідно до Методичних рекомендацій [5].

Матеріали і методи досліджень

Експеримент проводили на 24-х білих статевозрілих мишах самицях масою 14-17 г, яким у попередньо депільовану ділянку шкіри підшкірно вводили 0,2 мл 10% розчину кальцію хлориду та після розвитку некрозу на 4-й день у місце некротизованої ділянки вводили 0,2 мл добових агарових культур

Staphylococcus aureus ATCC 25923. Перед інфікуванням мікробну суміш стандартизували за оптичним стандартом мутності на 10 ОД, виходячи з навантаження 1 млрд. мікробних клітин на 1 мл для стафілококу.

Через 48 годин після зараження на ділянці введення культур стафілококу розвивались гнійно-некротичні рани, які, в залежності від величини і інтенсивності ураження, піддавалися зворотньому розвитку через 9-15 днів поспіль. Тварини були розділені на три групи по 8 тварин, включаючи групу позитивного контролю, тварин якої не лікували. У цьому дослідженні препаратом порівняння служила мазь «Левомеколь», що широко використовується в клінічній практиці для місцевого лікування гнійних ран (склад діючих речовин: левоміцетин, метилурацил), виробництва ВАТ Хімфармзавод „Червона зірка”.

Препарати наносили на зону ураження щоденно 1 раз на день в умовотерапевтичній дозі 20 мг/см². Ефективність лікування оцінювали на підставі величини та інтенсивності ураження в дослідних групах у порівнянні з позитивним контролем, загибелі тварин у випадку генералізації гнійного процесу, кількісної динаміки мікроорганізмів у рані та планіметричних показників (площа ран і відсоток щурів із загосними ранами). Висівання ранового ексудату проводили на м'ясо-пептонному агарі, використовуючи середовище Чистовича (для ідентифікації стафілококів).

Результати та їх обговорення

Результати дослідження лікувальної дії мазі «Філетол» на моделі гнійної рани наведені в таблиці 1 та рис. 1.

Через 48 годин після введення мікробного збудника у тварин відбувся прорив гнійно-некротичних вогнищ та утворилися незначні за розміром гнійні рани. Зовнішній огляд ран показав, що рана порожнина була заповнена гноєм жовтуватого кольору. Краї рани були набряклі та гіперемовані. Хоча розміри ран були незначні (близько 10 мм²), мікробне навантаження було високим, рівень його перевищував критичний та складав $1 \cdot 10^6 - 4 \cdot 10^6$ КУО/мл. Висока мікробна контамінація гнійних ран унаслідок генералізації інфекції призвела до летальності тварин протягом перших 3-х днів.

Найбільшу летальність (4 тварини) спостерігали в групі позитивного контролю, що склала 50%. В дослідних групах летальність мишей була значно нижчою: 12,5% - в групі мишей, яких лікували маззю «Філетол» та 25% - в групі мишей, яких лікували маззю «Левомеколь». Дані про рівень летальності тварин представлені на рисунку.

В групах позитивного контролю та тварин, лікованих маззю «Левомеколь» на 1-3-й дні досліді збільшувався рівень обсіменіння ран стафілококом за рахунок поразки прилеглих до гнійних ран ділянок.

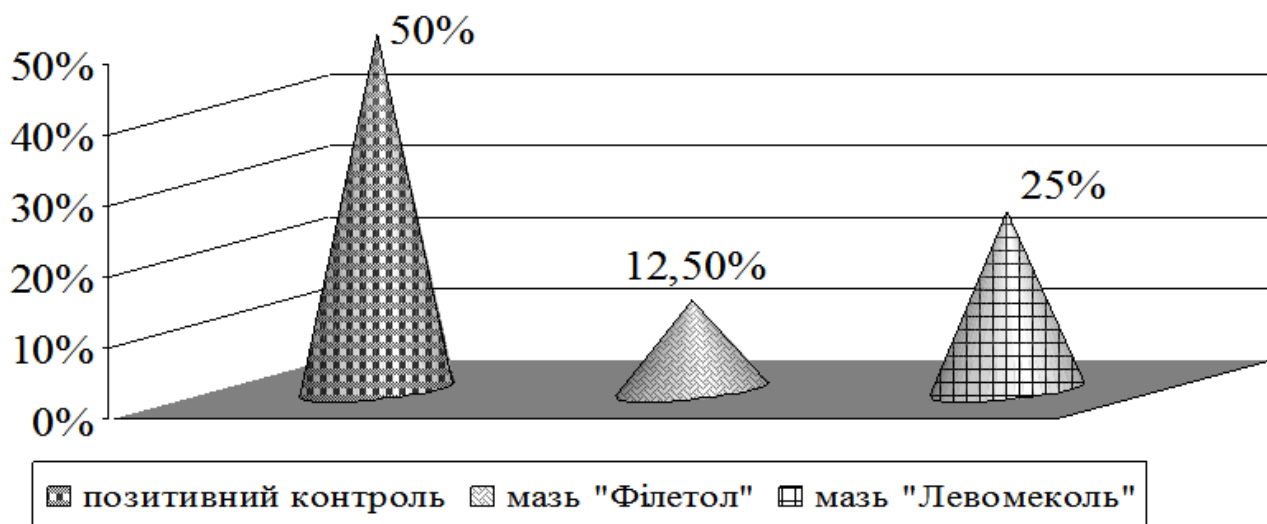


Рисунок. Рівень летальності тварин на моделі гнійної рани, викликаній стафілококовою інфекцією у мишей

Подальша динаміка ранового процесу в групі тварин позитивного контролю показала, що рівень обсіменіння поступово знижувався, але перевищував показники тварин, що отримували лікування. Повне загоєння гнійних ран в групі ПК відбулось на 13-й день дослідю.

Порівняння ефективності препаратів з урахуванням динаміки бактеріологічного кількісного контролю ранового вмісту показало, що більш виразну лікувальну дію на моделі гнійної рани стафілокової етіології виявила мазь «Філетол». Після 3-ої доби лікування маззю «Філетол» вміст *S. aureus* в рані знизився на 2 порядки та складав відповідно $2 \cdot 10^3$ - $3 \cdot 10^4$. Відсутність висіву стафілококу та повне загоєння ран під впливом препарату відбулось на 6-й день лікування.

Під дією мазі «Левомеколь» очищення ран від гнійного ексудату та повне загоєння відбулось пізніше – на 9-й день лікування. Менша ефективність препарату порівняння може бути пов'язана з високою резистентністю стафілококів до хлорамфеніколу – основного діючого компоненту мазі «Левомеколь», про що свідчать бактеріологічні показники та більша у 2 рази летальність тварин (25%) у цій групі.

Аналізуючи отримані дані можна зробити висновок, що мазь «Філетол» на фоні препарату порівняння виявила високу ефективність при лікуванні гнійних ран. Досліджуваний препарат сприяв більшому виживанню тварин і більш швидкому очищенню ран від гною, що привело до повного загоєння ран на три дні раніше, ніж в групі мишей, лікованих маззю «Левомеколь». Зменшення загибелі мишей під впливом дослідної мазі ймовірно обумовлене імуномодулювальним впливом двох діючих компонентів: густого екстракту хлорофіліпту і декспантенолу. Імуномодулювальний вплив густого екстракту хлорофіліпту полягає у стимуляції функціональної активності Т- і В- лімфоцитів [6], а вплив декспантенолу – за рахунок підвищення функціональної активності нейтрофільних гранулятів [7]. Виразна протимікробна дія та імунологічний захист організму тварин під дією мазі «Філетол» перешкоджав генералізації інфекції та сприяв швидкому очищенню рани від гнійно-некротичних мас. На відміну від мазі «Філетол», до складу мазі «Левомеколь» не входять засоби з імуномодулювальною дією. Менша ефективність препарату порівняння також може бути пов'язана з високою резистентністю стафілококів до хлорамфеніколу – протимікробного компоненту мазі «Левомеколь».

Таблиця 1 - Результати вивчення протимікробної дії мазі «Філетол» на моделі гнійної рани у мишей, викликаній стафілококовою інфекцією

Дні лікування	Позитивний контроль		Мазь «Філетол»		Мазь «Левомеколь»	
	n	Обсіменіння рани, КУО/мл	n	Обсіменіння рани, КУО/мл	n	Обсіменіння рани, КУО/мл
Вихідні дані	8	$1 \cdot 10^6$ - $4 \cdot 10^6$	8	$1 \cdot 10^6$ - $4 \cdot 10^6$	8	$2 \cdot 10^6$ - $3 \cdot 10^6$
1-й	6	$2 \cdot 10^6$ - $4 \cdot 10^7$	7	$3 \cdot 10^5$ - $4 \cdot 10^5$	7	$2 \cdot 10^6$ - $4 \cdot 10^7$
3-й	4	$1 \cdot 10^6$ - $4 \cdot 10^7$	7	$2 \cdot 10^3$ - $3 \cdot 10^4$	6	$2 \cdot 10^5$ - $5 \cdot 10^6$
5-й	4	$2 \cdot 10^5$ - $6 \cdot 10^6$	7	$1 \cdot 10^2$ - $2 \cdot 10^3$	6	$2 \cdot 10^4$ - $5 \cdot 10^5$
6-й	4	$5 \cdot 10^4$ - $6 \cdot 10^5$	7	-	6	$1 \cdot 10^2$ - $4 \cdot 10^3$
9-й	4	$2 \cdot 10^3$ - $6 \cdot 10^3$	7	-	6	-
11-й	4	$1 \cdot 10^2$ - $3 \cdot 10^2$	7	-	6	-
13-й	4	-	7	-	6	-

Примітки: 1. n – кількість тварин в групі; 2. КУО - колонісуючі організми.

Висновки

1. Нова комбінована мазь «Філетол» виявила виразну ефективність на моделі гнійної рани стафілококової етіології, що перевищила ефективність препарату порівняння мазі «Левомеколь».
2. Мазь «Філетол» сприяла більшому виживанню тварин (на 37,5% порівняно з позитивним контролем і на 12,5% порівняно з маззю «Левомеколь») і більш швидкому очищенню ран від гною, що привело до повного загоєння ран на 7 днів раніше за позитивний контроль та на 3 дні раніше за мазь «Левомеколь».

References

1. Kovalyov V. V. The composition and technology development of ointment with Chlorophyllipt extract : author. thesis. ... candidate. pharm. sciences: 15.00.01 - Technology of Drugs and Organization of Pharmacy / V. V. Kovalyov. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2009. – 24 p.
2. Lee C. K. Management of acute wounds / C. K. Lee, S. L. Hansen // Surg. Clin. North. Am. – 2009. – Vol. 89, №3. – P. 659–676.
3. Intranasal mupirocin prevent postoperative staphylococcus aureus infections / T. M. Perl, J. J. Cullen, R. P. Wenzel et al. // N. Engl. J. Med. – 2012. – Vol. 346, №24. – P. 1871-1877.
4. Volkov A.O. Microflora of purulent wounds and modern approaches to the use of antiseptics in surgical practice. Literature review / A. O. Volkov, G. M. Bolshakova // Annals of Mechnikov Institute. – 2009. – No2. – P. 19–23.
5. Iakovlieva L. V. Experimental study of new drugs for the topical treatment of wounds: guidelines / L. V. Iakovlieva, O. V. Tkacheva, Ya. O. Butko, Yu. B. Laryanovska. – K. : SEC MH of Ukraine, 2013. – 52 p.
6. Popov N. N. Chlorophyllipt influence on immune pathogenetic factors of inflammation in the development of purulent sagonantritis of persons with insulin-dependent diabetes mellitus / N. N. Popov, E. V. Ognivenko, E. A. Romanova // Bulletin of V.N. Karazin Kharkiv National University. – 2008. – No 831. Ser.: Medicine. – Issue 16. – P. 68–72.
7. Sinno S. Vitamins and cutaneous wound healing / S. Sinno, D. S. Lee, A. Khachemoune // J. Wound Care. – 2011. – Vol. 20, № 6. – P. 287-293.

UDC 615.272.4:615.451.1

STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NEW COMBINED OINTMENT ON THE MODEL OF PURULENT WOUND OF STAPHYLOCOCCAL ETIOLOGY

Tkachova O. V.

Introduction. Prevalence of purulent pathologies and insufficient number of combined ointments with multi-effect on inflammation, infection and tissue damage are a prerequisite for scientists of NUPh to develop a new combined ointment composed of: antiseptics ethacridine lactate and thick chlorophyllipt extract, drug with reparative and anti-inflammatory activity – dexpanthenol, PEG-base of the IInd generation with the moderate dehydrating ac-

tivity (180%). The range of pharmacological actions of Filetol ointment meets local therapy requirements in the IInd phase of the wound healing process. New ointment can also be applied in the Ist phase of wound healing process, if the wound contains a small amount of purulent exudate or does not contain it at all.

Material & Methods. The purulent wound of staphylococcal etiology was reproduced in 24 white mature female mice weighing 14-17 g and subcutaneously injected with 0.2 ml of 10% solution of calcium chloride in the skin area, depilated beforehand, and after the development of necrosis on the 4th day injected with 0.2 ml of daily agar cultures *S. aureus* ATCC 25923 in the necrotizing area. In 48 hours of the infection, in the area of administration of staphylococcus cultures purulent necrotic wounds developed, which, depending on the size and intensity of the lesions, were subjected to reverse development in 9-15 days in a row. Animals were divided into three groups of 8 animals, including a positive control group, animals in which were not treated. In this study, the comparator was Levomecol ointment which is widely used in clinical practice for the local treatment of purulent wounds. Efficacy of treatment was evaluated on the basis of lesion value and intensity in study groups compared with the positive control, animal deaths in the case of generalization of the purulent process, quantitative dynamics of microorganisms in the wound and planimetric indicators (area of wounds and the percentage of rats with healed wounds).

Results & Discussion. Intradermal administration of staphylococcus to mice resulted in the development of severe purulent necrotic wounds in animals which in the positive control group was accompanied by increase in titer of microbial contamination during the experiment. Due to the generalization of infection, high mortality of animals was observed and in the positive control group it amounted to 50%. Application of Filetol ointment contributed to the rapid cleansing of wounds from purulent necrotic masses, reducing the number of microorganisms and activation of reparative processes. From the 3rd day of treatment with Filetol ointment, content of *S. aureus* in the wound decreased by half and was 2×10^3 - 3×10^4 . Full liberation of wounds of Staphylococcus in the treatment with Filetol ointment was observed on the 6th day of treatment. In animals treated with Levomecol ointment, liberation of wounds of Staphylococcus took place 3 days later.

Conclusion. Use of Filetol ointment contributed to preventing the generalization of infection process in mice which affected the growth of the animal survival by 25% compared to the positive control and by 12.5% compared to Levomecol ointment as well as acceleration of healing of purulent wounds.

Keywords: ointment, antimicrobial, staphylococcus, wound