

УДК 615.486:661.183.2:616-001-002.3]-092.9

ВЛИЯНИЕ УГЛЕВОЛОКНИСТЫХ СОРБЕНТОВ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГНОЙНЫХ РАН

А.И. Ославский, С.М. Смотрин, Н.И. Прокопчик, А.И. Жмакин

УО "Гродненский государственный медицинский университет", Гродно, Беларусь

Одним из наиболее эффективных методов лечения гнойных ран является применение сорбентов.

Цель исследования. Целью исследования явилась оценка эффективности применения углеволокнистых сорбентов, изучение их бактериостатического действия в различные фазы раневого процесса у экспериментальных животных на основании изучения морфологических, микробиологических и патогистологических изменений.

Материал и методы. Создавались экспериментальные контаминированные кожные раны у 48 белых крыс-самцов. Выделены 2 группы по 24 особи - "контроль", для лечения использовался бинт марлевый медицинский (ГОСТ 1172-93). "Опыт" - крысы, для лечения ран которых применен отечественный углеволокнистый нетканый углеволок-сорбент "Карбопон-В-Актив".

Результаты. Изучена динамика заживления контаминированной раны на 3, 7, 14, 21 сутки эксперимента. Установлено, что применение углеволокнистых нетканых сорбентов позволяет ускорить процесс заживления экспериментальной контаминированной раны. С помощью патогистологического исследования прослежена особенность импрегнации в ткани нетканых сорбентов. In vivo изучен бактериостатический эффект углеволокнистых нетканых сорбентов.

Ключевые слова: контаминированная кожная рана, бинт марлевый медицинский, углеволокнистые сорбенты, "Карбопон-В-Актив".

Введение. Одними из основных условий для снижения риска развития раневой инфекции и оптимального заживления любых гнойных ран является отсутствие избыточного количества раневого экссудата и его вторичного инфицирования [1, 2]. Неблагоприятное заживление послеоперационных ран встречается у 5-22% пациентов хирургических стационаров, оперированных по поводу острых хирургических заболеваний органов брюшной полости. К перевязочным средствам, применяемым в настоящее время в гнойной хирургии, предъявляется ряд дополнительных требований - они не только должны надежно отграничивать рану от механических воздействий, вторичного инфицирования, высыхания, но и активно влиять на процессы заживления. Одним из наиболее эффективных методов лечения больных с гнойными ранами являются способы, включающие применение сорбционных перевязочных материалов [2].

В настоящее время одними из наиболее доступных по соотношению "цена-качество" сорбционных материалов являются углеволокнистые сорбенты. Преимуществами углеволокнистых сорбентов являются: высокая поглощательная и адсорбционная ёмкость, выраженный бактериостатический эффект, низкая себестоимость. В Республике Беларусь налажено одно из крупнейших в мире производство как нетканых, так и тканевых углеволокнистых сорбентов.

Материал и методы. Исследование проведено на 48 беспородных половозрелых белых крысах-самцах со средней массой 200-250 граммов, в возрасте от 6 месяцев до года. Все животные были разделены на 2 группы по 24 особи в каждой - животные группы "контроль", для лечения ран которых использовался обычный бинт марлевый медицинский (ГОСТ 1172-93). "Опыт" - крысы, для лечения ран которых применен отечественный углеволокнистый нетканый углеволок-сорбент "Карбопон-В-Актив".

Все этапы эксперимента выполняли в условиях адекватной анестезии с разрешения Этического комитета УО "Гродненский государственный медицинский университет", а также в соответствии с "Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях" (Страсбург 1986 г.).

За основу модели полнослойной плоскостной раны нами была взята модель В.А. Гинюка в модификации Р.И. Довнара [3]. Первоначально под эфирным масочным наркозом в асептических условиях операционной кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии УО "ГрГМУ" на спине животных в межлопаточной области по вертебральной линии выбривали шерсть. После обработки области манипуляции трижды антисептиком "Септоцид" в данной области подшивали предварительно простерилизованную предохранительную камеру с крышечкой с целью создания герметичности, предупреждения вероятного травмирования раны и дополнительного обсеменения окружающими микроорганизмами, а также для фиксации перевязочного материала на ране. Затем на стерильный пластиковый поршень шприца 10,0 мл, диаметр которого был на 0,5 см меньше внутреннего диаметра предохранительной камеры, нанесли раствор бриллиантовой зелени и маркировали границы будущей раны. Скальпелем в обозначенных границах иссекали кожу, подкожную клетчатку, поверхностную фасцию. Образованная таким образом раневая поверхность была меньше диаметра предохранительной камеры и находилась в изолирующем от внешней среды кольце до завершения эксперимента с животными. Зажимом Кохера в течение 4-х минут были размяты дно и края раны. Контаминирование раны выполняли путем внесения 2,0 мл 24-часовой взвеси следующих микробов: *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Взвесь содержала в 1 мм³ 1*10⁹ микробных тел (концентрацию определяли по стандарту мутности). Крышечки на предохранительных камерах закрывались, и крысы в индивидуальных клетках содержались в условиях вивария УО "ГрГМУ". Это исключало их травмирование со стороны других особей, в том числе и перегрызание фиксирующих нитей.

Стерилизацию опытных и контрольных образцов перевязочных материалов осуществляли методом автоклавирования при 121°C в течение 20 минут вакуумным автоклавом Клиниклав-25.

Перед началом эксперимента все животные подвергнуты рандомизации с помощью метода "монеты". При

выпадении значения "орел" животные переводились в группу "опыт", а при выпадении значения "решетка" - в группу "контроль" [4]. Перевязки животных с созданной контаминированной раной начинали производить спустя 48 часов после создания модели и осуществляли затем ежедневно в условиях стерильной операционной кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии УО "ГрГМУ" под эфирным масочным наркозом. В ходе перевязки выполняли извлечение исследуемых материалов из камер, фотографирование, планиметрию ран и замену бинта на новый стерильный бинт в контрольной группе, а в опытной - дисков из углеволокнутого нетканого сорбента на стерильные.

Эффективность влияния углеволокнутого нетканого сорбента на течение раневого процесса оценивали планиметрически и по результатам гистологического исследования ран. Для этого в каждой группе на 3, 7, 14, и 21 сутки в каждой группе выводили из эксперимента по 6 животных. Выведение из эксперимента осуществляли путем декапитации под эфирным наркозом. Забирали участки ран, которые после подготовки (фиксации в 10% растворе забуференного формалина, обезживания, парафиновой заливки, резки препаратов, окраски гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван Гизону) изучали в световом микроскопе. Площадь раны определяли с использованием специального устройства [5]. Результаты выражали в процентах от исходной площади. День нанесения ран считали нулевым днем эксперимента. Бактериостатический эффект углеволокнутого нетканого сорбента "Карбопон-В-Актив" оценивали на 3, 7, 14, 21 сутки эксперимента. С этой целью с раневой поверхности делали смыв стерильным физраствором в количестве 0,2 мл, смыв незамедлительно доставлялся в бактериологическую лабораторию для определения в нем общего микробного числа (ОМЧ) в пересчете на 1 мл. Этот показатель определялся также (в пересчете на 1 г) и в ткани, взятой со дна раны. ОМЧ определялось по стандартной методике путем засева десятикратных разведений смывов и гомогенатов ткани в мясопептонный бульон с последующей регистрацией на следующие сутки наличия/отсутствия роста бактерий в соответствующем разведении [6]. Микробиологическая часть работы выполнялась на кафедре микробиологии УО "ГрГМУ".

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием программы Statistica 6.0. Различия в группах оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни при заданном 5% уровне значимости.

Результаты и обсуждение. На рисунке 1 показана динамика изменения площади инфицированной раны по отношению к первоначальной при применении различных перевязочных материалов - бинта марлевого медицинского и углеволокнутого нетканого сорбента "Карбопон-В-Актив". Анализируя данные рисунка 1, в первые 4 суток наблюдаем тенденцию к увеличению площади контаминированной раны по отношению к первоначальной в опытной группе и до 6 суток в контрольной. В последующем площадь раны более значительно уменьшается в опытной группе животных. На 13-14 сутки в опытной группе наблюдали эпителизацию ран, в то время как в контрольной группе площадь экспериментальной контаминированной раны даже на 19 сутки лечения составила 11% от первоначальной площади, а полная эпителизация наступала на 20-21 сутки.

При сравнении морфологической картины препаратов ран животных, выведенных из эксперимента на 3-и сутки, отмечается следующее. В контрольной группе в

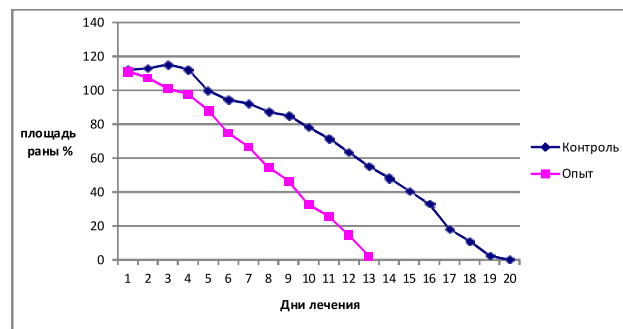


Рисунок 1 - Динамика изменения площади инфицированных экспериментальных ран

дне раны определяется детрит с выраженной нейтрофильно-клеточной инфильтрацией, которая проникает в клетчатку и мышечную ткань (рис. 2). Кое-где определяются микроабсцессы (рис. 3). Среди детрита определяются колонии микроорганизмов, местами образующих "микробную пленку" (рис. 4).

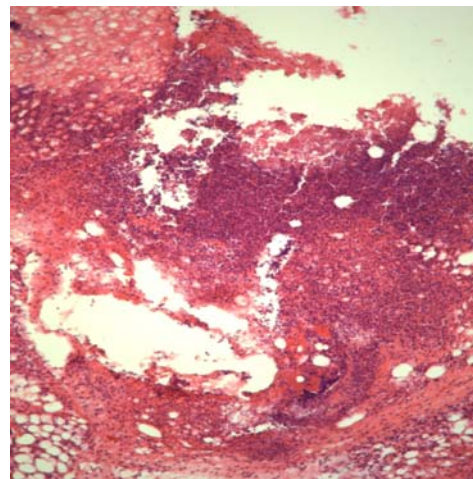


Рисунок 2 - "Контроль", 3 сутки эксперимента. Дно контаминированной раны. Окраска гематоксилином и эозином. x200

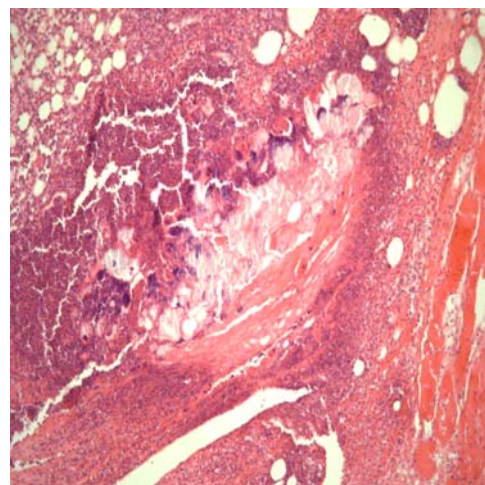


Рисунок 3 - "Контроль", 3 сутки эксперимента. Дно контаминированной раны. Формирование микроабсцесса. Окраска гематоксилином и эозином. x200

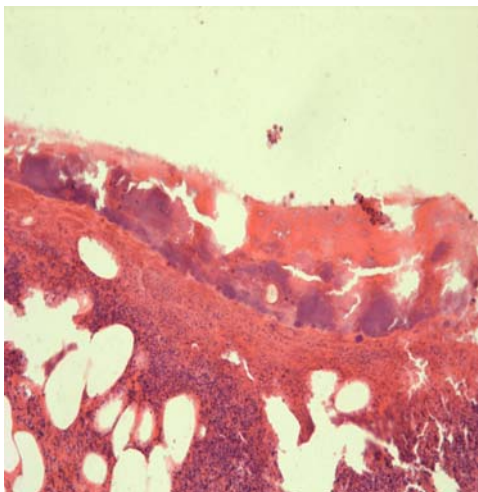


Рисунок 4 - "Контроль", 3 сутки эксперимента. Дно контаминированной раны. "Микробная пленка". Окраска гематоксилином и эозином. x200

Отмечено начало формирования юной грануляционной ткани.

В то же время в опытной группе определяется детрит, хорошо визуализируются волокна сорбента, расположенные поверхностно (рис.5). Детрит выглядит в виде узкой полоски на дне раны, менее выражен по сравнению с контрольной. Микроабсцессы не определяются, колонии микроорганизмов также не выявлены.

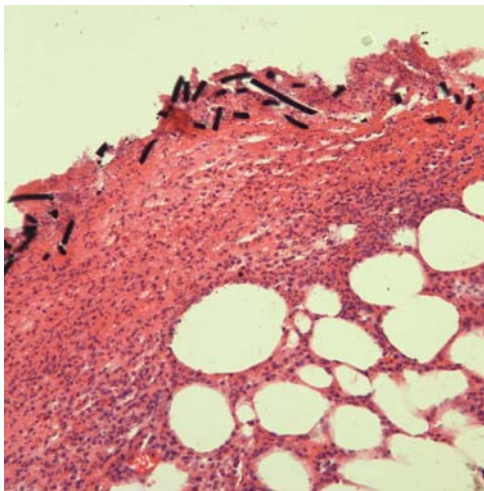


Рисунок 5 - "Опыт", 3 сутки эксперимента. Волокна сорбента в дне контаминированной раны. Окраска: гематоксилином и эозином

В контрольной группе на 7-е сутки эксперимента в дне раны определяется детрит в большом количестве с выраженной лейкоцитарной инфильтрацией, обнаруживаются микроабсцессы в подкожной клетчатке (рис. 6), отмечается разрастание неспецифической грануляционной ткани, богатой как сосудами, так и клетками (рис. 7). Инфильтрат полиморфно-клеточный, состоит из гранулоцитов и агранулоцитов, определяются фибробласты и фиброциты.

В опытной группе на препаратах ран на 7-е сутки эксперимента детрит визуализируется в виде мелких очажков и не во всех препаратах. Микроабсцессов не обнаружено, имеет место диффузное разрастание неспецифической грануляционной ткани, причем преобладают

агранулоциты: лимфоциты, фибробласты, фиброциты, лишь только в зоне детрита содержится большое количество нейтрофилов (рис.8). Повсеместно определяются вновь образованные коллагеновые волокна, окрашенные пикрофуксином в бледно-розовый цвет (рис 9). Углеволокна выявлены в основном лишь в зоне детрита. В местах, где рана очистилась, сорбент не определяется.

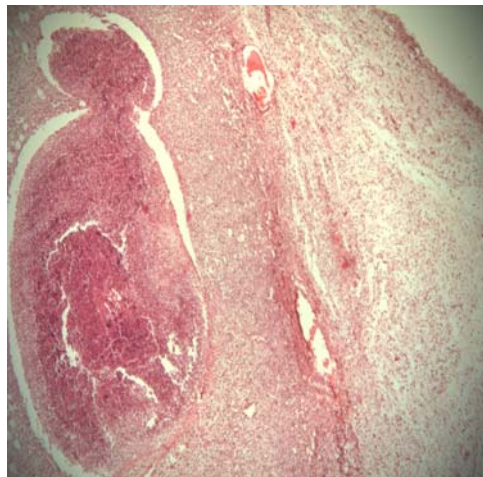


Рисунок 6 - "Контроль", 7 сутки эксперимента. Дно контаминированной раны. Микроабсцесс. Окраска гематоксилином и эозином. x100

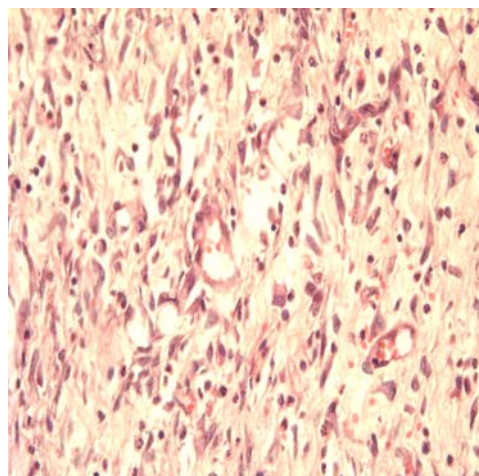


Рисунок 7 - "Контроль", 7 сутки эксперимента. Дно контаминированной раны. Грануляционная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. x400

В опытной группе на препаратах ран на 7-е сутки эксперимента детрит визуализируется в виде мелких очажков и не во всех препаратах. Микроабсцессов не обнаружено, имеет место диффузное разрастание неспецифической грануляционной ткани, причем преобладают агранулоциты: лимфоциты, фибробласты, фиброциты, лишь только в зоне детрита содержится большое количество нейтрофилов (рис.8). Повсеместно определяются вновь образованные коллагеновые волокна, окрашенные пикрофуксином в бледно-розовый цвет (рис 9). Углеволокна выявлены в основном лишь в зоне детрита. В местах, где рана очистилась, сорбент не определяется.

В контрольной группе на 14 сутки эксперимента в дне раны сохраняется детрит в большом количестве, пропитанный нейтрофилами, но расположенный более поверхностно, в виде узкой полоски. Под детритом опреде-

ляется неспецифическая грануляционная ткань, которая распространяется в подкожную клетчатку и мышечную ткань, сосуды во многих местах толстостенные, что может свидетельствовать о начале хронизации процесса (рис. 10). Клеточный компонент воспаления хорошо выражен и состоит из лимфоцитов, гистиоцитов, плазматических клеток, фибробластов и фиброцитов. Определяются вновь образованные коллагеновые волокна. Среди детрита определяются колонии микроорганизмов, с большой долей вероятности, микотического происхождения (рис. 11).

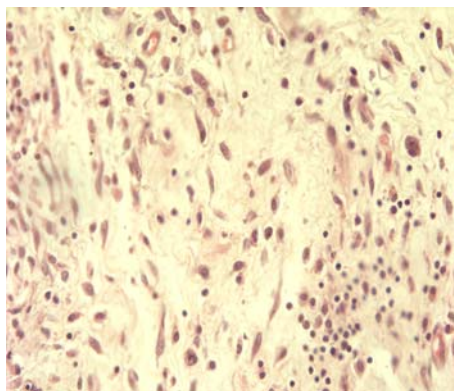


Рисунок 8 - "Опыт", 7 сутки эксперимента. Дно контаминированной раны. Грануляционная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. x400

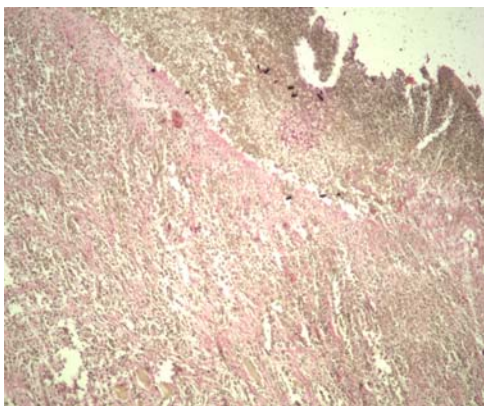


Рисунок 9 - "Опыт", 7 сутки эксперимента. Дно контаминированной раны. Коллагеновые волокна, окрашенные в бледно-розовый цвет. Окраска по Ван Гизону. x100

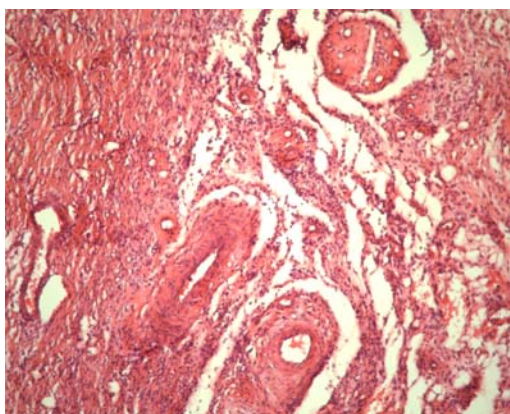


Рисунок 10 - "Контроль", 14 сутки эксперимента. Дно контаминированной раны. Толстостенные кровеносные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином. x200

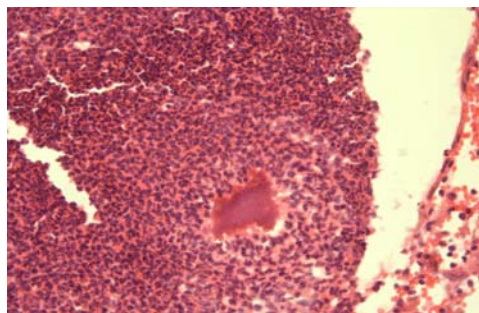


Рисунок 11 - "Контроль", 14 сутки эксперимента. Дно контаминированной раны. В микроабсцессе - скопления микроорганизмов (вероятно, патогенная грибковая флора). Окраска гематоксилином и эозином. x400

В опытной группе на 14-е сутки детрит сохранен в виде незначительных по размеру участков, узкой полоской лишь в одном препарате, во всех других случаях детрит отсутствует, раны эпителизованы (рис. 12). Эпителий в зоне рубца в 1,5 раза толще по сравнению с эпителием здоровой кожи краев раны.

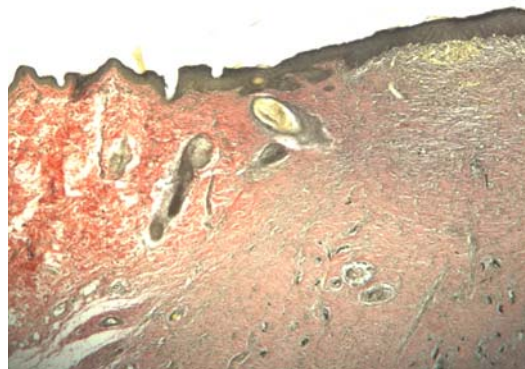


Рисунок 12 - "Опыт", 14 сутки эксперимента. Эпителизованная рана. Окраска гематоксилином и эозином. x100.

Разрастается неспецифическая грануляционная ткань, которая имеет вид упорядоченной полосы. Толстостенных сосудов не определяется. Углеволока сорбента определяются в глубине подлежащих тканей, окруженные инфильтратом, с наличием вокруг них скоплений гигантских многоядерных клеток типа "инородных тел" среди молодой соединительной ткани (рис. 13).

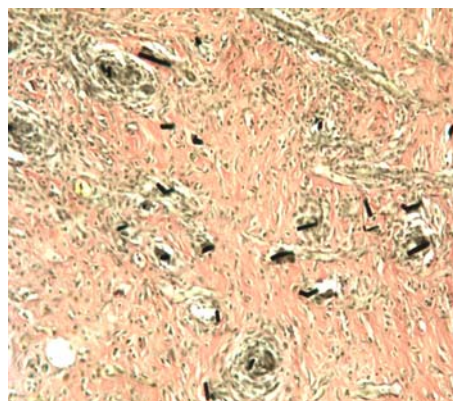


Рисунок 13 - "Опыт", 14 сутки эксперимента. Волокна сорбента, окруженные клетками типа "инородных тел" среди соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. x200

На 21-е сутки эксперимента установлено заживление ран как в контрольной, так и в опытной группе. В контрольной группе в нескольких препаратах сохраняется лейкоцитарная инфильтрация (рис.14).

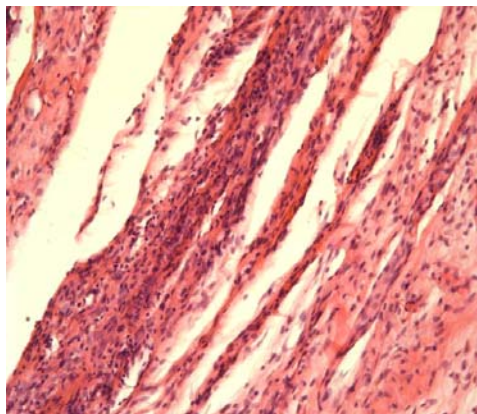


Рисунок 14 - "Контроль", 21 сутки эксперимента. Мелкоочаговая лейкоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. x200

В опытной группе отмечается наличие единичных волокон сорбента как в рубце (рис. 15), так и в цитоплазме многоядерных клеток типа "инородных тел" (рис. 16).

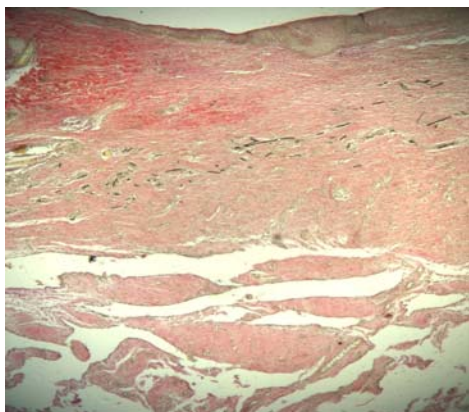


Рисунок 15 - "Опыт", 21 сутки лечения. Углеволокна сорбента среди соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином x50

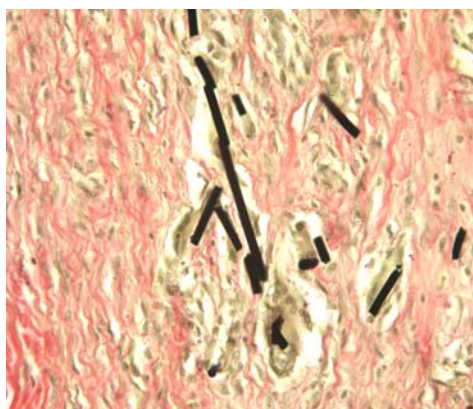


Рисунок 16 - "Опыт", 21 сутки лечения. Незавершенный фагоцитоз волокон сорбента. Окраска гематоксилином и эозином. x400

При изучении бактериостатических свойств углеволокнистых сорбентов *in vivo* нами были получены следующие результаты. В опытной группе уже на 7 сутки лечения МЧ ткани раны не превышало 10⁵, такая величина МЧ определялась в эти сроки лечения и в смыве с поверхности раны. Микробное загрязнение ран, для перевязки которых использовался стандартный бинт медицинский, достигало этого уровня лишь к 21 суткам. При этом степень микробного загрязнения раны коррелировала с клиническими и морфологическими данными.

Полученные нами данные подтверждают наличие у углеволокнистых нетканых сорбентов выраженного бактериостатического эффекта не только *in vitro*, но также *in vivo*.

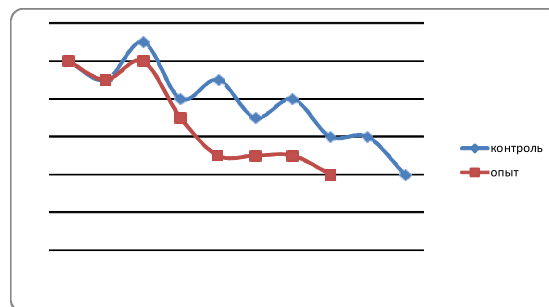


Рисунок 17 - Изменения количества микроорганизмов в раневом отделении и тканях раны КОЕ / грамм

Выводы:

1. Сроки заживления экспериментальных контаминированных ран, для лечения которых применен отечественный нетканый углеволокнистый сорбент "Карбопон-В-актив", достоверно ниже, чем при лечении их медицинским марлевым бинтом (ГОСТ 1172-93).
2. Недостатком нетканых углеволокнистых сорбентов является их высокая ворсоотделяемость, повышенный уровень адгезии к тканям, импрегнация в ткани с последующим формированием многоядерных клеток типа "инородных тел". Возможным путем устранения данных недостатков является применение комбинированных перевязочных средств, препятствующих адгезии и импрегнации ворсин углесорбента в раны.
3. Углеволокнистые нетканые сорбенты обладают выраженным бактериостатическим эффектом *in vivo*.

Литература

1. Хирургические инфекции кожи и мягких тканей. Российские национальные рекомендации / В.С. Савельев [и др.] под общ. ред. В.С. Савельева, ПК "БЛОК НОУТ", 2009. - 90 с.
2. Абаев, Ю.К. Раневые повязки в хирургии /Ю.К. Абаев / Журнал "Медицинские новости" [Электронный ресурс]. - 2003. - № 12. - Режим доступа: <http://www.mednovosti.by/journal.aspx?article=2502> - Дата доступа: 10.04.2011.
3. Влияние перевязочного материала, содержащего наночастицы золота или серебра, на заживление экспериментальной раны / С.М. Смотрин [и др.] // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. - 2012. - №1.С.75 - 80.
4. Бабич, П.Н., Чубенко А.В., Лапач С.Н.. Принципы применения статистических методов при проведении клинических испытаний лекарственных средств // Здоров'я України. - 2004. - № 102.
5. Устройство для определения площади экспериментальной раны в предохранительной камере или устройстве для моделирования полнослойного кожного дефекта: пат. 6699 Респ. Беларусь, МПК А 61 В 5/107, G 01 В 3/00 Р.И. Довнар,

С.М. Смотрич, Н.Н. Иоскевич; заявитель Гродненский государственный медицинский университет. - № и 20100278; заявл. 19.03.10; опубл.30.10.10 //Афіцыйны бюл. / Нац. Центр інтэлектуал. уласнасці. - 2010. - № 5. - С 164-165.

6. Методика определения общего микробного числа // Сайт кафедры микробиологии Сибирского Государственного медицинского университета [Электронный ресурс]. - 2013. - Режим доступа: <http://www.ssmu.ru/office/f4/micro/guide/Content/ecology/Eco10.html>. - Дата доступа: 05.02.2013.

THE EFFECT OF CARBON-FIBER SORBENTS ON THE HEALING OF EXPERIMENTAL PURULENT WOUNDS

A.I. Aslawski, S.M. Smatryn, N.I. Prakopchyk, A.I. Zhmakin

Educational Establishment "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus

One of the most effective methods of purulent wounds treatment is the use of sorbents.

Aim of the study: To evaluate the effectiveness of carbon-fiber sorbents and their bacteriostatic properties in various phases of wound process in the experimental animals based on the morphological, microbiological and pathohistological changes.

Materials and Methods: Skin wounds of 48 white male rats were experimentally contaminated. The subjects were divided into 2 groups comprising 24 animals each. In the control group we used gauze bandage (GOST 1172-93) to treat the wounds. In the experimental group home made non-woven carbon-fiber sorbent "Carbopon-B-Active" was used.

Results: The dynamics of healing of contaminated wounds on the 3, 7, 14 and 21st days of the experiment has been studied. It has been determined that the use of non-woven carbon-fiber sorbent hastened the process of healing of experimentally contaminated wounds. Peculiarities of non-woven sorbent impregnation into tissues have been studied histologically.

Key words: *contaminated skin wounds, gauze bandage, carbon-fiber sorbents, Carbopon-B-Active.*

Адрес для корреспонденции: e-mail: aoslawski@yandex.ru

Поступила 24.01.2013