

ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ С НАНОВОЛОКНАМИ ХИТОЗАНА К БАКТЕРИЯМ E.COLI

Меламед В.Д.¹, Анисько Л.А.², Валентюкевич А.Л.¹, Тарасова Н.А.¹, Лапчук К.Д.¹

¹*Гродненский государственный медицинский университет*

²*Городская клиническая инфекционная больница, г. Минск*

Актуальность. Процесс формирования резистентности микроорганизмов в равной степени распространяется не только на группу антибиотиков, но и на традиционные антисептики, мази на ланолин-вазелиновой основе, к которым чувствительность основных возбудителей хирургической инфекции (в том числе, E.coli) не превышает 1—5%. Это диктует необходимость разработки и внедрения новых групп лекарственных средств, обладающими антимикробными свойствами. Грамотрицательные бактерии имеют внешнюю мембрану, которая является мощным барьером для многих антибиотических веществ. В составе мембраны присутствуют липополисахариды и структурные белки, которые придают поверхности микробной клетки отрицательный заряд и гидрофильные свойства, благодаря чему затрудняется проникновение внутрь гидрофобных молекул с антибактериальным действием. Поликатионная природа позволяет хитозану взаимодействовать с отрицательно заряженными компонентами внешней мембраны грамотрицательных бактерий [1]. Было показано, что такая связь приводит к изменениям во внешней мембране у *E.coli*, что подтверждалось уменьшением устойчивости клеток к действию поверхностно-активных веществ. В последние годы резко возрос интерес к наночастицам и нановолокнам самой разнообразной химической природы, в том числе и на основе биополимера хитозана. Антибиотические свойства наночастиц хитозана исследованы мало и показано, что они проявляли антибактериальную активность в отношении *E. coli*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, при этом они были значительно более эффективными по сравнению с исходным хитозаном [2]. Под действием наночастиц наблюдалась агрегация бактериальных клеток, изменение морфологии клеточной стенки, нарушение барь-

ерной функции мембран, выход электролитов и лизис клеток [3]. Работ, посвященных исследованию антибактериальной активности раневых покрытий с нановолокнами хитозана к *E. coli*, нами не найдено.

Цель. Исследование *in vitro* антимикробных свойств раневых покрытий с нановолокнами хитозана по отношению к *E.coli*.

Методы исследования. Раневые покрытия состояли из подкладочного материала, на который методом электроформования были нанесены слои нановолокон природного биополимера хитозана. В пластиковые стерильные пробирки разливали мясопептонный бульон (МПБ) объемом 1 мл. В пробирку с МПБ №1 вносили культуру *E.coli* и ресуспензировали до мутности 0,5 по McFarland (стандарт мутности Lot 052114062 с.г. до 20.05.2017, Liofilchem, Италия). Степень мутности 0,5 по McFarland соответствовала концентрации 10^8 КОЕ/мл. Далее из пробирки №1 с ресуспензированной культурой *E.coli* в концентрации 10^8 КОЕ/мл забирали 100 мкл суспензии и переносили в пробирку №2 с 900 мкл МПБ. Таким образом, концентрация микроорганизмом в пробирке №2 составила 10^7 КОЕ/мл. Аналогичным способом забирали суспензию из пробирки №2 и добавляли в пробирку №3 с МПБ, образуя концентрацию в пробирке №3 10^6 КОЕ/мл, и так далее, до получения концентрации 10^2 КОЕ/мл в пробирке №7. На каждый опытный образец раневых покрытий с нановолокнами хитозана готовили ряд из 7 таких пробирок различной концентрации. Также был приготовлен аналогичный ряд пробирок, который использовали в качестве контроля. В каждую пробирку (№1-№7) стерильным пинцетом вносили опытный образец покрытия размером 1,0*1,0 см для определения его бактерицидного или бактериостатического действия. В качестве контроля использовался аналогичный ряд пробирок без внесения в них опытных образцов покрытий и ряд пробирок с внесенным образцом подложки без нанесенных нановолокон хитозана. Все пробирки помещались в термостат на 24-часовую инкубацию при температуре 37°C. По истечении суток содержимое каждой пробирки в объеме 20 мкл рассеивали на отдельную чашку Петри с кровяным агаром и подвергали 24-часовой инкубации при температуре 37°C, после чего оценивали рост микроорганизмов каждой искомой концентрации микроорганизмов (МО) по сравнению с контрольными чашками (инокуляты МО без внесения исследуемых образ-

цов покрытий) под контролем стереомикроскопа марки МБС-1. При оценке роста МО в первую очередь оценивалось число колоний на чашке Петри с кровавым агаром опытных и контрольных рядов концентраций.

Для исследования использовались по данной методике инокулянты *E.coli* в концентрациях 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 /мл.

Результаты и их обсуждение. Используемые методики микробиологических исследований соответствовали современным требованиям. Кроме этого, учитывая, что хитозан не растворим в воде, разработанная оригинальная методика позволила осуществить исследование антимикробных свойств раневых покрытий с нановолокнами хитозана, моделируя условия, имитирующие инфицированную раневую поверхность. В результате проведенных исследований были установлены антимикробные свойства раневых покрытий с нановолокнами хитозана, что отражено в оценке роста *E.coli* на чашках каждого разведения (табл.1).

Таблица 1.

Оценка роста *E.coli* на чашках каждого разведения при воздействии раневых покрытий с нановолокнами хитозана по сравнению с контролем

Разведение	Испытуемый образец	Результат	Контроль	Результат
10^8	Раневые покрытия с нановолокнами хитозана	Есть рост	Чистая культура	Есть рост
10^7	Раневые покрытия с нановолокнами хитозана	Есть рост	Чистая культура	Есть рост
10^6	Раневые покрытия с нановолокнами хитозана	Есть рост (слабый)	Чистая культура	Есть рост
10^5	Раневые покрытия с нановолокнами хитозана	Роста нет	Чистая культура	Есть рост
10^4	Раневые покрытия с нановолокнами хитозана	Роста нет	Чистая культура	Есть рост
10^3	Раневые покрытия с нановолокнами хитозана	Роста нет	Чистая культура	Есть рост
10^2	Раневые покрытия с нановолокнами хитозана	Роста нет	Чистая культура	Есть рост

Аналогичные исследования антимикробных свойств раневых покрытий с нановолокнами хитозана осуществлялись в отношении наиболее значимых в хирургической практике с точки зрения их влияния на развитие раневого инфекционного процесса

(*C.albicans*, *K.pneumoniae*, *Ps.aeruginosa*, *S.aureus*, *S.pyogenes*).

Выводы. Разработанная методика микробиологических исследований позволяет создать имитацию инфицированной раневой поверхности и осуществлять исследование антимикробных свойств раневых покрытий с нановолокнами хитозана к микроорганизмам, наиболее значимых для развития хирургической инфекции. Доказано, что анализируемые раневые покрытия обладают выраженными антимикробными свойствами по отношению к бактериям *E. coli*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куликов, С.Н. Антибактериальная и антимикотическая активность хитозана: механизмы действия и роль структуры/ С.Н. Куликов, Ю.А.Тюрин, Р.С. Фассахов, В.П. Варламов // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* - 2009. - № 5. – С. 91-98.

2. Ильина, А.В. Хитозан - природный полимер для формирования наночастиц/ Ильина А.В. и соавт. // *Доклады Академии Наук.* - 2008. - №2. - С.199-201.

3. Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрыбина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. - М.: Изд-во Наука. - 2002. - 368 с.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ НАРУШЕНИЕМ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Мельник И.В., Дадаев Ш.А., Ахмедов М.М., Джуманов А.К., Хасанов С.М.

Ташкентский педиатрический медицинский институт

Актуальность: острое нарушение мезентериального кровообращения до настоящего времени остается хирургической проблемой, сопровождающейся крайне высокими цифрами летальности, которые не имеют практически никакой тенденции к снижению за последние 10-15 лет. Показатели смертности по данным отечественных и зарубежных авторов колеблются от 70 до 90%. Во многом это обусловлено тяжестью контингента оперируемых пациентов (пожилой и старческий возраст, большое количество сопутствующих терапевтических заболеваний), поздней диагностикой с обширным некротическим поражением кишечника, тяжелыми системными расстройствами в до- и послеопераци-