

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М.І. ПИРОГОВА**

ЧЕРНЯКОВА ГАННА МИХАЙЛІВНА

УДК: 616-001.17-085.281-085.246.2-092.9-078:579.841.11.083.1

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ
АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ У КОМБІНАЦІЇ З
НАНОКОМПОЗИТАМИ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ОПІКОВИХ ІНФЕКЦІЙ**

03.00.07 – мікробіологія



Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Харківському національному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Мінухін Валерій Володимирович, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», головний науковий співробітник лабораторії протимікробних засобів.

Офіційні опоненти:

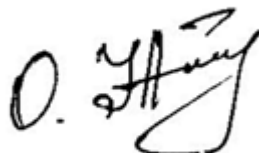
- доктор медичних наук, професор **Ковальчук Валентин Петрович**, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри мікробіології;
- кандидат медичних наук, доцент **Бобир Віталій Васильович**, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології.

Захист дисертації відбудеться 19 жовтня 2018 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 05.600.05 Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України за адресою: 21018, Україна, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України за адресою: 21018, Україна, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

Автореферат розісланий 11 вересня 2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
К 05.600.05
кандидат медичних наук



О. А. Назарчук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. На сьогодні, коли у сучасному світі стрімко зростає кількість постраждалих від опіків, обумовлених вибухами та пожежами, проблема вдосконалення існуючих методів місцевого консервативного лікування людей з опіковою травмою є особливо гострою (Реск М.Д., 2011; WHO, 2017). В Україні щорічно реєструється більш ніж 100 тисяч випадків опікових уражень, серед постраждалих 60-80 % мають поверхневі опіки II – IIIA ступеня, які не потребують оперативного втручання (Козинец Г.П., 2012). Поширеність серед населення ускладнених ран, тривалість їх перебігу та недостатньо ефективна терапія змушують дослідників поглиблено вивчати дану патологію (Нагайчук В.І., 2014; Huges M.A., 2016).

Найтяжчими є опіки, які супроводжуються інфекційною складовою. Головним джерелом гнійно-запальних ускладнень є мікрофлора рани, яка містить асоціації різних мікроорганізмів, видовий склад яких нестабільний і швидко змінюється (Hussien I. A., 2012; Нагайчук В.І. та ін., 2014; Azzopardi E.A. et al., 2014). Проникнення патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів до термічно-травмованих тканин зумовлює розвиток гнійно-септичних ускладнень, септичного шоку, поліорганної дисфункції і летальності (Shupp J.W. et al., 2010; Алексеев А.А. и др., 2015; David G., 2017).

Лікування гнійно-септичних ускладнень, зумовлених полірезистентною мікрофлорою, і до сьогодні залишається складною проблемою (Назарчук О. А. та ін., 2016). Незважаючи на величезний арсенал протибактеріальних засобів, від 60 % до 80 % хворих з термічними травмами помирає від токсемії та септикотоксемії (D'Avignon L.C., 2010; Boomer J.S., 2011; Varajas-Nava L.A. et al., 2013). Причинами недостатньої ефективності місцевого лікування є тривале застосування застарілих препаратів, до яких формується резистентність, та більшості з них властива односпрямована дія. Ефективними можуть виявитися ті препарати, які мають різноспрямовані властивості, а саме: сприяють видаленню надлишку ексудату, очищенню від гною та некротичних тканин з одночасним пригніченням мікрофлори та стимулюванням репаративних процесів (Полутова Н. В. и др., 2011; Земсков В. М. и др., 2012; Pozdnyakov A.S. et al., 2016).

Одним із ефективних і перспективних шляхів вирішення цієї проблеми є місцеве використання сорбентів із багатофункціональними властивостями (Кружалов В. А., 2014, Палій Г.К. та ін., 2014; Duarte Moura et al., 2016). Тим більше, що на цей час одним із найбільш успішних та інноваційних методів терапії інфікованих опікових ран є метод трансдермального постачання ліків багатоспрямованої дії (Cilurzo F. et al., 2016; Cambiaso-Daniel J. et al., 2018). Саме тому привертає увагу метод аплікаційної сорбції, який дозволяє проводити одночасно антибактеріальну, протизапальну та детоксикаційну терапію. Як сорбент-основу було вибрано високодисперсний діоксид кремнію (ВДК) у зв'язку з наявністю у нього унікального комплексу фізико-хімічних та медико-біологічних властивостей (Чуйко А. А., 2003; Воронин Е. Ф., 2010).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом наукових досліджень, комплексних науково-

дослідних програм кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова Харківського національного медичного університету МОЗ України «Експериментальне мікробіологічне обґрунтування протимікробної терапії гнійно-запальних захворювань» (номер державної реєстрації 0114U003390); «Удосконалення методів діагностики та лікування гнійно-запальних захворювань, викликаних умовно-патогенними мікроорганізмами» (номер державної реєстрації 0118U000930). Автор є виконавцем фрагментів зазначеної теми наукових досліджень. Тема і план дисертації затверджені на Вченій раді Харківського національного медичного університету (протокол №4 від 17 березня 2016 р.).

Мета роботи – підвищити ефективність лікування інфікованих опікових ран шляхом застосування нових комплексних антимікробних препаратів, виготовлених із використанням наноконструктивних матеріалів та антибіотиків різних хімічних груп.

Завдання дослідження:

1. Визначити спектр різновидів, питому вагу та антибіотикочутливість провідних збудників ранової опікової інфекції в сучасних умовах.

2. Дослідити чутливість домінуючих видів – збудників гнійно-септичних ускладнень опікових ран до зразків нових біонаноконструктивів у дослідах *in vitro*.

3. Розробити та відтворити на лабораторних тваринах експериментальну модель ранової опікової інфекції, обумовлену *P. aeruginosa*.

4. Вивчити мікробіологічні, імунологічні та біохімічні показники тварин з опіковою раною, інфікованою *P. aeruginosa*, у процесі лікування новими апікаційними сорбентами.

5. Оцінити ефективність місцевого застосування сорбентів з 0,1 % левофлоксацину та 15,0 % сульфаметоксазолу та обґрунтувати перспективність їх використання для лікування опікових інфекцій.

Об'єкт дослідження – збудники опікової інфекції, зразки нових апікаційних біонаноконструктивів для місцевого лікування термічних опіків.

Предмет дослідження – спектр різновидів збудників опікових інфекцій та чутливість до антибіотиків провідних видів патогенів, протибактерійна активність та інші властивості нових апікаційних біонаноконструктивів, ефективність їх застосування для місцевого лікування модельної опікової синьогнійної інфекції.

Методи дослідження: мікробіологічні, біологічні, біохімічні, імунологічні, планіметричні, гістологічні, математико-статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі доповнено дані щодо етіологічних чинників інфекційних ускладнень у хворих з опіками різного ступеня тяжкості. Визначено, що провідними збудниками ранової опікової інфекції є *S. aureus* (44 %) та *P. aeruginosa* (16,9 %). Проведено детальне дослідження антибіотикочутливості даних патогенів в умовах сучасного опікового стаціонару та виявлено високий рівень резистентності клінічних ізолятів *S. aureus* до цефтріаксону (75,0 %) та карбапенемів (73,1-75,0 %). Клінічні штами *P. aeruginosa* характеризуються полірезистентністю.

Уперше вивчено антибактеріальні властивості експериментальних зразків біонаноконструктивів апікаційного призначення щодо клінічних штамів *S. aureus* та *P. aeruginosa in vitro*. Отримано нові дані, згідно з якими до сорбенту з 0,1 %

левофлоксацину чутливі 100,0 % досліджуваних клінічних штамів стафілококів та 90,0 % штамів синьогнійної палички; до сорбенту з 15,0 % сульфаметоксазолу чутливі 30,0 % штамів *S. aureus* та 65,0 % штамів *P. aeruginosa*.

Встановлено, що місцеве застосування сорбенту з 0,1 % левофлоксацину забезпечує зниження мікробної контамінованості рани нижче критичного рівня на 3-тю добу спостереження ($(2,13 \pm 0,4) \times 10^3$ КУО/мл) ($p \leq 0,05$), що супроводжується високою ранозагоювальною активністю та забезпечує повну епітелізацію ранової поверхні у тварин, лікованих цим препаратом, на 2-3 доби раніше порівняно із тваринами, які отримували інші лікувальні засоби ($p \leq 0,05$).

Вперше проведено детальне дослідження впливу біонанокмпозитів з 0,1 % левофлоксацину та 15,0 % сульфаметоксазолу на мікробіологічні, біохімічні, імунологічні та гістологічні показники експериментальних тварин, порушених унаслідок термічного опіку та інфікування синьогнійною паличкою, та встановлено, що використання аплікаційного сорбенту з 0,1 % левофлоксацину сприяє більш швидкій їх нормалізації.

На основі результатів покращення вищезгаданих показників у тварин з модельною синьогнійною опіковою інфекцією обґрунтовано доцільність застосування біонанокмпозиту з 0,1 % левофлоксацину для профілактики та лікування опікової ранової інфекції, спричиненої умовно-патогенними бактеріями.

Практичне значення отриманих результатів. Проведено епідеміологічний моніторинг та визначено етіологію гнійно-запальних ускладнень у хворих з опіками різного ступеня тяжкості. Досліджено чутливість основних збудників ранової опікової інфекції до антибактеріальних препаратів. Впроваджено в заклади практичної охорони здоров'я спосіб вибору антибіотика для лікування опіків, ускладнених інфекційною складовою, що відображено в інформаційному листі № 166-2017.

Розроблено модель інфікованої опікової рани, яка дозволяє досліджувати ефективність препаратів для місцевого лікування інфекційно-ускладнених опікових ран, та отримано патент України на корисну модель «Спосіб моделювання інфікованої опікової рани у лабораторних тварин» (№ 123558 U, опубл. 26.02.2018).

Обґрунтовано склад та доцільність використання біонанокмпозиту аплікаційного призначення з 0,1% левофлоксацину для місцевого лікування опікової рани, інфікованої *P. aeruginosa*, та отримано рішення про видачу патенту на винахід «Аплікаційний сорбційний засіб для лікування ранових інфекцій» (заявка № а201612020 від 28.11.2016 р.).

Розроблено засоби для нанесення порошкових сумішей на ранові поверхні та отримано патенти України на корисні моделі «Інструмент для нанесення порошкоподібних препаратів на ранову поверхню» (№ 118573 U, опубл. 10.08.2017) та «Шпатель для нанесення порошкових лікарських сумішей на рану» (№ 118267 U, опубл. 25.07.2017).

Ефективність розроблених аплікаційних сорбентів підтверджена при їх апробації на дрібних свійських тваринах та великій рогатій худобі в ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини НААН України».

Результати отриманих наукових досліджень впроваджено в навчальний процес кафедр мікробіології, вірусології та імунології ВНЗ України: Одеського

національного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету, Львівського національного медичного університету та у практичну охорону здоров'я в опікове відділення ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т.Зайцева НАМН України».

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням автора. Вибір теми дисертаційної роботи, визначення мети, завдань та методів дослідження здійснені разом з науковим керівником, доктором медичних наук, професором В. В. Мінухіним.

Дисертантом особисто проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз літературних джерел, вивчено етіологічну структуру збудників ранової опікової інфекції та їх чутливість до антибіотиків, виконано всі експериментальні дослідження *in vitro* та *in vivo* на тваринах, обґрунтовано доцільність місцевого застосування розроблених препаратів - біонанокмпозитів аплікаційного призначення для підвищення ефективності лікування інфекційно-ускладнених опіків. Особисто дисертантом проведена первинна обробка результатів дослідження, статистичний аналіз, написано всі розділи дисертації, сформульовано висновки та практичні рекомендації. Персональний внесок автора в усіх опублікованих зі співавторами працях наводиться за текстом дисертації та в авторефераті у списку фахових публікацій.

Автор висловлює глибоку вдячність доктору хімічних наук Вороніну Є. П., доценту Горбач Т.В. та доценту Горголь Н.І. за допомогу в проведенні досліджень, ідеї та розробки співавторів не запозичувались.

Апробація результатів дисертації. Основні наукові положення дисертації оприлюднено та обговорено на з'їздах та науково - практичних конференціях різного рівня: IXth International Interdisciplinary Scientific Conference Of Young Scientists And Medical Students «Actual Problems Of Clinical And Theoretical Medicine» (Харків, 2016); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Youthnanobiotech-2016. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» (Київ, 2016); LIX науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2016); науково-практичній конференції за участі міжнародних спеціалістів «Антибактеріальна терапія у XXI сторіччі: проблеми та досягнення» (Харків, 2016); науково-практичній конференції молодих вчених "Медицина XXI століття" (Харків, 2016); міжвузівській конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 2017); науково - практичній конференції «Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями» (Харків, 2017); 58th Annual Meeting of the Austrian Society of Surgery (Vienna, 2017); XV з'їзді товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (Одеса, 2017); International research and practice conference «Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine» (Lublin, Poland, 2017); міжвузівській конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 2018).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 22 наукові праці, з них 7 статей (4 – у наукових фахових журналах, рекомендованих ДАК України, 2 – у наукових фахових журналах України, які входять до міжнародних наукометричних баз: Web of science та Scopus; 1 - у зарубіжному спеціалізованому

журналі), 11 – у збірниках конференцій, конгресів та з'їздів, 3 деклараційні патенти України на корисні моделі, 1 інформаційний лист про нововведення у галузі охорони здоров'я України.

Обсяг і структура дисертації. Матеріали дисертаційної роботи викладено на 186 сторінках друкованого тексту (основний обсяг становить 138 сторінок). Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалу і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, висновків, списку використаних джерел (усього 277 бібліографічних описів, з яких 150 кирилицею та 127 латиницею), додатків. Дисертаційна робота ілюстрована 20 рисунками та 18 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність проблеми, визначено мету, завдання, об'єкт та предмет дослідження, сформульовано наукову новизну, розкрито теоретичне й практичне значення роботи, визначено особистий внесок автора, наведено дані про апробацію отриманих результатів.

В огляді літератури викладено сучасний погляд на проблему ранової інфекції в опіковому стаціонарі, містяться відомості щодо етіології гнійно-септичних ускладнень у хворих з опіками, розглянуто питання антибіотикорезистентності провідних збудників опікової інфекції. Окреслено основні напрямки місцевого лікування опікових ран та можливості застосування методів еферентної терапії у хворих з інфекційною патологією на сучасному етапі, а також перспективи розроблення нових методів лікування інфекційно-ускладнених опікових ран.

Матеріали та методи. Дослідження етіології основних збудників інфекційних ускладнень у пацієнтів з опіками проводилося на базі опікового відділення КЗОЗ «ХМКЛ швидкої та невідкладної медичної допомоги ім. проф. О. І. Мещанінова», де було проаналізовано чутливість 237 штамів мікроорганізмів, виділених від 209 хворих опікового центру, за період з 2007 по 2016 рр. Матеріалом для дослідження була кров та відокремлюване з опікових ран. Ідентифікацію вилучених культур мікроорганізмів здійснювали за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями загальноприйнятими методами згідно з «Определителем бактерий Берджи» (1997) та «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology» (2009). Приготування поживних середовищ здійснювалось згідно з ГОСТ 10.444. 1 – 84 (СТСЭВ 3833 – 82) «Приготовление растворов, реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе». Контроль якості поживних середовищ проводили відповідно до чинних вимог за Інформаційним листом МОЗ України № 05.4.1/1670 «Бактеріологічний контроль поживних середовищ», (Київ, 2000). Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили за допомогою електронного приладу для визначення каламутності бактеріальної суспензії Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія).

Для визначення антибіотикочутливості клінічних штамів *P. aeruginosa* та *S. aureus*, виділених від хворих з опіками різного ступеня тяжкості, застосовували

диско-дифузійний метод (ДДМ) Bauer-Kirbi на середовищі Мюллера–Хінтона («Hi Media», India). Були використані набори готових комерційних дисків з 12 антибактеріальними препаратами, які містили у своєму складі цефоперазону сульбактаму 50 мкг, лінезоліду, амікацину, цефтріаксону, ванкоміцину по 30 мкг, лінкоміцину, тигацилу по 15 мкг, гентаміцину, меропенему, іміпенему по 10 мкг, ципрофлоксацину, левофлоксацину по 5 мкг (виробництва ТОВ «Аспект», м. Київ). Результати дослідження оцінювали згідно з наказом МОЗ України № 167 від 05.04.2007р. «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів».

Було досліджено дію 6 експериментальних зразків біонаноконструкцій, які були виготовлені у лабораторії модифікування поверхні оксидів Інституту хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України та люб'язно надані завідувачем лабораторії, доктором хімічних наук Вороніним Є. П. Дослідні композиції відрізнялися за кількісним вмістом антибіотику у складі та містили (маса/об'єм та/або об'єм/об'єм у залежності від консистенції інгредієнту): 0,05 %, 0,1 % та 0,5 % левофлоксацину та 5 %, 10 %, 15 % сульфаметоксазолу. Інші складники в кожному зразку були представлені так: 0,6 % нітрату срібла, 0,6 % хлорофіліпту, 3,7 % хітозану та 29,0 % кукурудзяної олії.

Антибактеріальні властивості препаратів-зразків *in vitro* визначали методом послідовних двократних розведень у рідкому поживному середовищі. Використовували музейні штами (*S. aureus* ATCC 29213; *P. aeruginosa* ATCC 27853), отримані з філії Музею патогенних мікроорганізмів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України», та 60 клінічних штамів (*S. aureus* – 40 штамів, *P. aeruginosa* – 20 штамів), отримані від хворих опікового відділення та виділені у бактеріологічну відділі клініко-діагностичної лабораторії КЗОЗ «ХМКЛ швидкої та невідкладної медичної допомоги ім. проф. О. І. Мещанінова» (свідоцтво про атестацію № 01-0137/2017). Мікробостатичну дію дослідних біонаноконструкцій оцінювали за мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК), їхні мікробіцидні властивості оцінювали за мінімальною бактерицидною (МБК) концентрацією, вираженими в мг/л. Мінімальні концентрації антимікробних засобів визначали відповідно до наказу МОЗ України №167 від 05.04.2007 р. «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів».

Вивчення ефективності розроблених нами сорбентів аплікаційного призначення *in vivo* проводилося на моделі ранової опікової інфекції у мишей. Дослідження виконані на 108 6-ти місячних мишах-самцях лінії NMRI, вагою 17-23г та відтворені тричі.

Модель контактної термічної опіку створювали, використовуючи спеціальний пристрій ($t = 93^{\circ}\text{C}$; експозиція 8 секунд) (Мінухін В.В. та ін., 1999). Усім експериментальним тваринам наносили опік, який дорівнював 10,0 % загальної поверхні тіла, що обчислювалася за формулою Мее-Рубнера (Кочетыгов Н.И., 1973) та становила у середньому $87,0 \pm 1,76 \text{ мм}^2$.

Модель інфікованої опікової рани (Чернякова Г.М. та ін., 2018) створювали безпосередньо після нанесення термічної травми. Мишам нашкірно інокулювали 1 мл добової агарової культури клінічного полірезистентного штаму *P. aeruginosa*,

отриманого від хворого з опіками, у дозі $(1,5 \pm 0,04) \times 10^8$ КУО/мл, що відповідала LD_{50} відпрацьованої для зовнішнього застосування. На другу добу під опіковий струп вводили 0,1 мл мікробної суспензії, що містила аналогічну дозу синьогнійної палички. На третій день, під місцевою інфільтраційною анестезією 0,5 % розчином новокаїну, опіковий струп видаляли та розпочинали лікування. Досліди виконані згідно із загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Директивами Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Законом України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження», що засвідчено комісією з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету (протокол № 2 від 7.02.2018 р.).

Усі експериментальні тварини були розподілені на 6 груп (n=18): I група - інтактні тварини, II – контрольна (тварини, які не отримували лікування); III – дослідна (тварини, яких місцево лікували монсорбентом на основі ВДК); IV – дослідна (тварини, яким на рану наносили розроблений аплікаційний сорбент з 0,1 % левофлоксацину та іншими компонентами); V – дослідна (тварини, які місцево отримували розроблений аплікаційний сорбент з 15,0 % сульфаметоксазолу та іншими компонентами); VI – контрольна (тварини, яким на поверхню рани наносили контрольний препарат - мазь з 1,0 % сульфадіазину срібла). Об'єктивність результатів дослідження досягали однаковими для всіх тварин умовами їх утримання та лікування, а також єдиною методикою оцінки отриманих результатів. Дослідні сорбенти та препарат-основу наносили шаром 3-5 мм (Чуйко А.А., 2003), референтний препарат – 0,5 г.

Ефективність лікування оцінювали за допомогою: *бактеріологічних* досліджень якісного (Даценко Б.М., 1989; Шелкова Н.Г., 2008) та кількісного (Заруцкий Я. Л., 2009) складу мікрофлори рани; *планіметричних* показників (зміна площі ранової поверхні у динаміці – тест Попової Л.М., терміни загоєння ран); даних *морфологічних* досліджень, які проводили використовуючи гістологічні методики, викладені в інструкціях з гістологічної техніки та гістохімії (Лилли Р., 1960; Меркулов Г.А., 1961; Пирс Э., 1962).

Визначення концентрації цитокінів (прозапального - ІЛ-1 β та протизапального - ІЛ-4) у сироватці крові тварин проводили методом імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів виробництва ТОВ «Вектор-Бест-Україна» (м. Київ, Україна), дотримуючись доданих до набору інструкцій. Оптичну щільність зразків вимірювали на імуноферментному аналізаторі «STAT FAX» (США).

Визначення концентрації С3-компоненту комплементу проводили імунотурбідиметричним методом з використанням наборів реагентів виробництва ОАО «Витал Девелопмент Корпорейшн» (г. Санкт- Петербург, РФ), дотримуючись доданих до набору інструкцій. Концентрацію С3-компоненту комплементу визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 340нм на біохімічному аналізаторі «STAT FAX 303» (США).

Визначення С-реактивного білка проводили відповідно до інструкції

використання діагностикуму латексного для виявлення С-реактивного білка в сироватці крові «СРБ – латекс-тест» (НВЛ «Гранум», Україна).

Визначення концентрації гаптоглобіну в сироватці крові проводили за реакцією з риванолом із застосуванням набору реактивів виробництва ПрАТ «Реагент» (Україна, м. Дніпро).

Визначення концентрації церулоплазміну в сироватці крові проводили за методом Равіна із застосуванням набору реактивів виробництва ПрАТ «Реагент» (Україна, м. Дніпро).

Визначення сіромукоїду проводили турбідиметричним методом з застосуванням набору реактивів виробництва ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна).

Визначення вмісту ТБК-активних речовин (малонового діальдегіду) проводили спектрофотометричним методом (Камышников В.С., 2009).

Статистичну обробку результатів виконували на персональному комп'ютері за допомогою комп'ютерних програм MS Excel, «BioStat LE», Medcalc. Визначали середнє значення, стандартні помилки. Для оцінювання відмінностей показників застосовували при нормальному розподілі - параметричний t-критерій Ст'юдента, при відхиленні від нормального розподілу - непараметричні критерії U Мана-Уїтні, нормальність розподілу визначали за критерієм Шапіро-Уїлка. Статистично значущими вважали відмінності при $p \leq 0,05$ (Гланц С., 1999; Зайцев В. М. и др., 2003).

Результати досліджень та їх обговорення. Результати власних досліджень викладено у третьому - п'ятому розділах.

У *третьому розділі* наведено результати дослідження етіології та антибіотикочутливості основних збудників інфекційних ускладнень у пацієнтів з опіками, яке проводилося на базі опікового відділення КЗОЗ «ХМКЛ швидкої та невідкладної медичної допомоги ім. проф. О. І. Мещанінова». За період з 2007 по 2016 рр. із locus morbi від 209 хворих було виділено 237 штамів мікроорганізмів, які належали до грампозитивних і грамнегативних бактерій та грибів роду *Candida* (рис. 1).

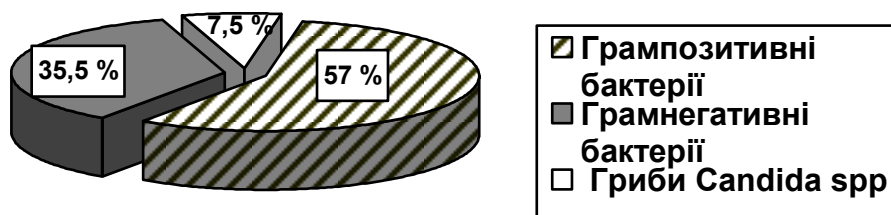


Рисунок 1 – Питома вага груп мікроорганізмів – збудників інфекційних ускладнень у хворих з опіками.

Усього від хворих опікового відділення за визначений проміжок часу було виділено та ідентифіковано 135 штамів грампозитивних бактерій (що становило 57,0 % від загальної кількості вилучених мікроорганізмів), 84 штами грамнегативних бактерій (35,5 %) та 18 штамів грибів *Candida* (7,5 %). Видовий спектр ідентифікованих мікроорганізмів та частоту їх виділення від тематичних

хворих наведено в табл. 1.

Таблиця 1 – Видовий спектр та частота виділення збудників гнійно-запальних ускладнень в опіковому відділенні

| Вид мікроорганізмів | Абсолютне число виділених штамів | % від числа усіх виділених штамів |
|------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Грампозитивні бактерії | | |
| <i>S. aureus</i> | 104 | 44,0 |
| <i>S. epidermidis</i> | 31 | 13,0 |
| Грамнегативні бактерії | | |
| <i>P. aeruginosa</i> | 40 | 16,9 |
| <i>P. vulgaris</i> | 16 | 6,8 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 15 | 6,3 |
| <i>E. coli</i> | 13 | 5,5 |
| Гриби | | |
| <i>Candida spp.</i> | 18 | 7,5 |
| РАЗОМ | 237 | 100 |

Як свідчать дані табл.1, провідними збудниками ранової опікової інфекції серед грампозитивних мікроорганізмів є *S. aureus* (44 %), серед грамнегативних - *P. aeruginosa* (16,9 %).

Від хворих опікового відділення у переважній більшості випадків ($p \leq 0,05$) умовно-патогенні мікроорганізми були ізольовані в монокультурі (77,0 %), ніж в асоціаціях (23,0 %) (рис. 2).

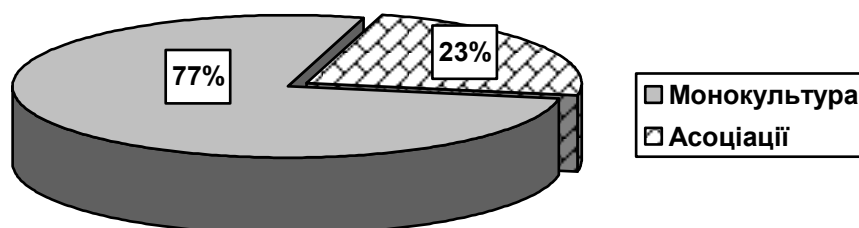


Рисунок 2 – Співвідношення мікроорганізмів збудників інфекційних ускладнень, виділених монокультурою та в асоціаціях, у хворих з опіками.

На наступному етапі було досліджено чутливість визначених основних видів збудників опікових інфекцій, а саме *S. aureus* (104 штамів) та *P. aeruginosa* (40 штамів), до антибактеріальних препаратів (рис. 3). Визначено, що клінічні ізоляти *S. aureus* демонстрували високу чутливість до ванкоміцину (95,2 %) та амікацину (70,2 %), до фторхінолонів, а саме до ципрофлоксацину (68,3 %) та левофлоксацину (61,5 %), чутливість була на середньому рівні, високорезистентними були до цефтріаксону та карбапенемів. Полірезистентними виявилися штами *P. aeruginosa*. Вони зберегли чутливість на достатньому рівні тільки до карбапенемів, а саме до меропенему (70 %) та іміпенему (90 %).

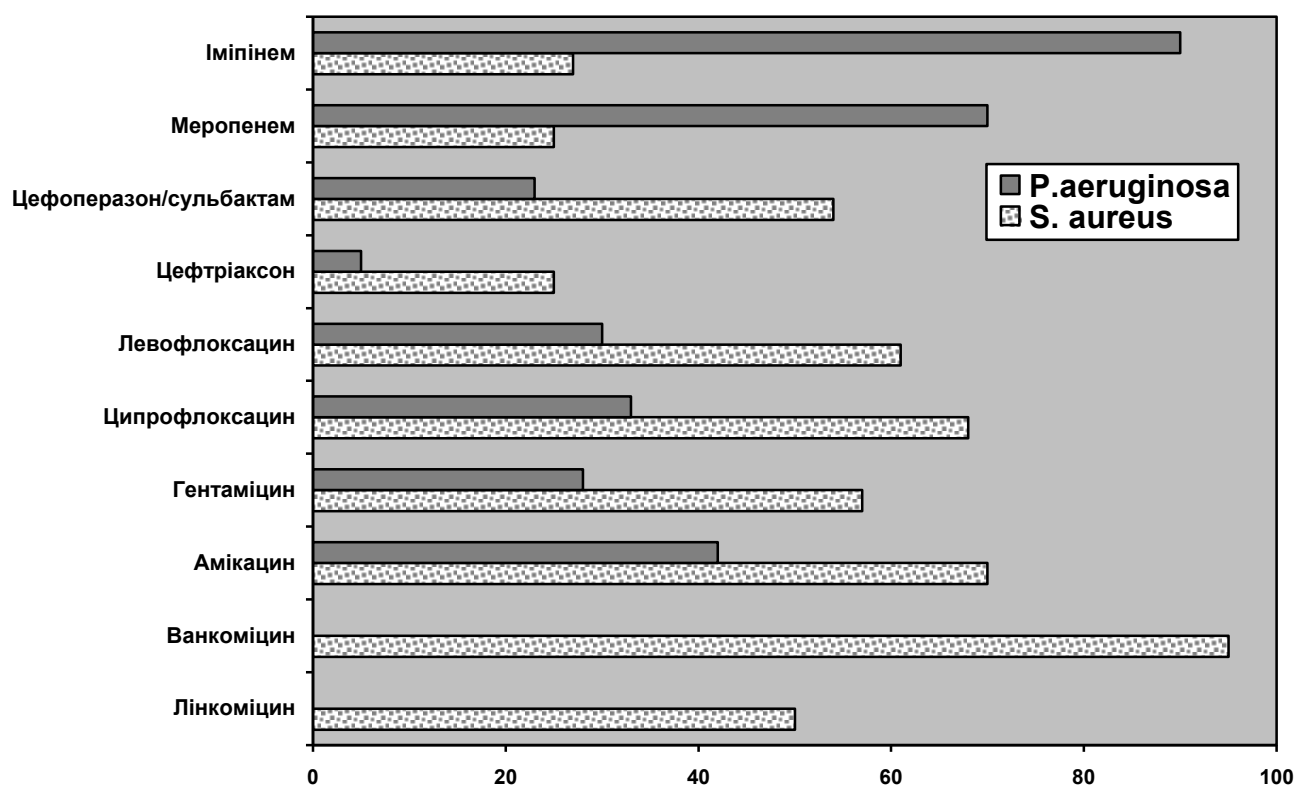


Рисунок 3 – Антибіотикочутливість основних збудників опікової інфекції (%).

Проведені на цьому етапі дослідження обґрунтовують доцільність вивчення ефективності протимікробної дії нових біонанокompatитів щодо референтних та клінічних штамів домінуючих видів збудників гнійно-запальних ускладнень опікових ран, а саме *S. aureus* та *P. aeruginosa*.

У **четвертому розділі** наведено результати дослідження антимікробної ефективності зразків нанокompatитів із левофлоксацином (табл.2) та сульфаметоксазолом (табл.3) відносно референтних та клінічних штамів *S. aureus* та *P. aeruginosa* в дослідах *in vitro*.

Таблиця 2 – Протимікробна активність біонанокompatитів з левофлоксацином відносно референс-штамів *S. aureus* ATCC 29213 та *P. aeruginosa* ATCC 27853

| № композиції | Референс-штами мікроорганізмів | МІК (мг/л) | МБК (мг/л) |
|--------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | перерахунок на левофлоксацин | перерахунок на левофлоксацин |
| 1* | <i>S. aureus</i> ATCC 29213 | 0,42±0,03 | 1,7±0,14 |
| | <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 1,7±0,14 | 3,41±0,29 |
| 2* | <i>S. aureus</i> ATCC 29213 | 0,42±0,03 | 1,7±0,14 |
| | <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 1,7±0,14 | 3,41±0,29 |
| 3* | <i>S. aureus</i> ATCC 29213 | 0,5±0,025 | 2,1±0,15 |
| | <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 2,1±0,15 | 4,2±0,3 |

Примітка. * - вміст левофлоксацину в композиції № 1 - 0,05 %; № 2 – 0,10 %; № 3 - 0,50 %.

Таблиця 3 - Протимікробна активність наноконкомпозитів з сульфаметоксазолом відносно референс-штамів *S. aureus* ATCC 29213 та *P. aeruginosa* ATCC 27853

| № композиції | Референс-штами мікроорганізмів | МІК (мг/л) | МБК (мг/л) |
|--------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | | перерахунок на сульфаметоксазол | перерахунок на сульфаметоксазол |
| 1* | <i>S. aureus</i> ATCC 29213 | 662,5±37,5 | 1325±75 |
| | <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 331±19 | 662,5±37,5 |
| 2* | <i>S. aureus</i> ATCC 29213 | 662,5±37,5 | 1325±75 |
| | <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 331±19 | 662,5±37,5 |
| 3* | <i>S. aureus</i> ATCC 29213 | 534,5±65,5 | 1068,5±131,5 |
| | <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 267±33 | 534,5±65,5 |

Примітка. * - вміст сульфаметоксазолу в композиції №1 – 5,0 %; №2 – 10,0 %; №3 – 15,0 %.

Збільшення вмісту антибіотику левофлоксацину до 0,5 % не призводило до підвищення антибактерійної активності препарату, тому для подальших досліджень на тваринах було обрано композицію №2, яка містила 0,1 % левофлоксацину. Суміш із 15,0 % сульфаметоксазолу виявилася більш ефективною за два інші зразки, тому була вибрана для подальших досліджень на тваринах.

Надалі вивчали антибактерійну дію відібраних наноконкомпозитів із левофлоксацином та сульфаметоксазолом на клінічних ізолятах *S. aureus* (n=40) та *P. aeruginosa* (n=20), отриманих від пацієнтів опікового відділення КЗОЗ «ХМКЛ швидкої та невідкладної медичної допомоги ім. проф. О. І. Мещанінова».

Усі клінічні штами стафілококів виявилися чутливими до наведених концентрацій левофлоксацину, а МІК наноконкомпозиту дорівнювала (0,49±0,16) мг/л ($p \leq 0,05$). Стосовно *P. aeruginosa* варто зазначити, що 18 штамів (90,0 %) були чутливими до апробованих в експериментах розведень біонаноконкомпозиту, а МІК становила (3,75±1,25) мг/л ($p \leq 0,05$) (рис. 4).

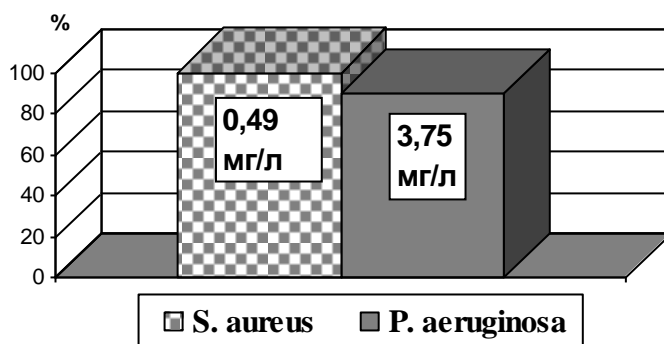


Рисунок 4 - Чутливість клінічних ізолятів *S. aureus* та *P. aeruginosa* до дослідного сорбенту із 0,10 % левофлоксацину (МІК).

Щодо дослідного сорбенту з сульфаметоксазолом за результатами експерименту 28 штамів (70,0 %) стафілококів виявилися не чутливими до

наведених концентрацій (рис.5). Щодо інших 12-ти (30,0 %) ізолятів, МІК становила $(537,5 \pm 212,5)$ мг/л з відсутністю достовірної різниці з відповідним показником для референтних штамів ($p > 0,05$). Стосовно клінічних ізолятів *P. aeruginosa* варто зауважити, що 13 штамів (65,0 %) виявилися чутливими і МІК дорівнювала (1125 ± 375) мг/л, що достовірно вище значень МІК, які були отримані при дослідженні референтних штамів ($p \leq 0,05$).

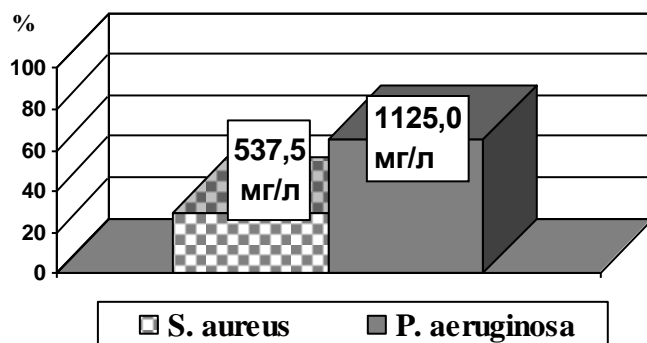


Рисунок 5 - Чутливість клінічних ізолятів *S. aureus* та *P. aeruginosa* до дослідного сорбенту з 15,0 % сульфаметоксазолу (МІК).

У н'ятому розділі наведено результати дослідження ефективності застосування нанокompatитів аплікаційного призначення із 0,1 % левофлорсацину та 15,0 % сульфаметоксазолу на моделі опікової рани, інфікованої клінічним штамом *P. aeruginosa*, у мишей.

При використанні оригінального аплікаційного сорбенту з 0,1 % левофлорсацину рівень мікробного забруднення рани вже на третю добу лікування дорівнював $(2,13 \pm 0,4) \times 10^3$ КУО/мл, що свідчило про подолання критичного рівня та виявилось достовірно раннім порівняно з величиною цього показника, визначеного в інших групах тварин ($p < 0,05$).

За результатами біохімічних та імунологічних досліджень було доведено, що застосування нових аплікаційних сорбентів із 0,1 % левофлорсацину і 15,0 % сульфаметоксазолу сприяє скороченню терміну лікування за рахунок їх здатності впливати на інтенсивність синтезу цитокінів (табл.4; табл.5), С3 компоненту комплементу та білків гострої фази на різних етапах загоєння термічної травми, ускладненої синьогнійною інфекцією.

Застосування біонанокompatитів з левофлорсацином та сульфаметоксазолом призводило до зниження синтезу інтерлейкіну-1 β , тим самим справляючи позитивну дію на процеси репаративної регенерації термічно травмованих тканин. Щодо динаміки рівня багатифункціонального ІЛ-4, то на всіх етапах дослідження його рівень поступово зростав в усіх групах (табл. 5). На 7-у добу максимальний рівень ІЛ-4 відмічали у групах, де застосували для лікування сорбент з 15,0 % сульфаметоксазолу та сорбент із 0,1 % левофлорсацину, мінімальна його концентрація реєструвалась в групі без лікування модельної опікової ранової інфекції. До 21-ї доби в усіх тварин спостерігали поступове підвищення концентрації ІЛ-4, при цьому в контрольній групі динаміка його синтезу була найповільнішою.

Таблиця 4 – Концентрація інтерлейкіну-1 β у сироватці крові досліджених груп тварин у різні терміни перебігу і лікування опікової *Pseudomonas*-інфекції

| № п/п | Групи тварин, n=18 | Концентрація інтерлейкіну-1 β , пг/мл | | |
|-------|--|---|---------------------|--------------------|
| | | 7-а доба | 14-а доба | 21-а доба |
| 1. | Інтактна | 2,57 \pm 0,25 | | |
| 2. | Контрольна (без лікування) | 37,43 \pm 0,33* | 25,06 \pm 0,75* | 10,87 \pm 0,72* |
| 3. | Моносорбент | 29,09 \pm 0,75*** | 20,09 \pm 0,94*** | 9,03 \pm 0,15*** |
| 4. | Сорбент з 0,1 % із левофлораксацину | 31,19 \pm 0,82*** | 10,56 \pm 0,61*** | 5,21 \pm 0,52*** |
| 5. | Сорбент із 15,0 % сульфаметоксазолу | 30,98 \pm 0,72*** | 22,76 \pm 0,80*** | 5,81 \pm 0,27*** |
| 6. | Мазь із 1,0 % сульфадіазину срібла (препарат-контроль) | 31,29 \pm 1,05*** | 18,91 \pm 0,53*** | 7,41 \pm 0,48*** |

Примітки: ($p \leq 0,05$) * - відмінності достовірні в порівнянні з інтактною групою; ** - відмінності достовірні в порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 5 - Концентрація інтерлейкіну-4 у сироватці крові досліджених груп тварин у різні терміни перебігу і лікування опікової *Pseudomonas*-інфекції

| № п/п | Групи тварин, n=18 | Концентрація ІЛ-4, пг/мл | | |
|-------|---|--------------------------|---------------------|---------------------|
| | | 7-а доба | 14-а доба | 21-а доба |
| 1. | Інтактна | 8,52 \pm 1,02 | | |
| 2. | Контрольна (без лікування) | 11,49 \pm 0,56* | 27,33 \pm 0,67* | 36,1 \pm 0,67* |
| 3. | Моносорбент | 12,83 \pm 0,50*** | 24,20 \pm 0,69*** | 46,82 \pm 0,61*** |
| 4. | Сорбент із 0,1 % левофлораксацину | 15,17 \pm 0,66*** | 36,22 \pm 0,66*** | 58,28 \pm 0,57*** |
| 5. | Сорбент із 15,0 % сульфаметоксазолу | 15,95 \pm 0,54*** | 26,93 \pm 0,72* | 41,81 \pm 1,36*** |
| 6. | Мазь з 1,0 % сульфадіазину срібла (препарат-контроль) | 14,08 \pm 0,43*** | 32,28 \pm 0,64*** | 50,06 \pm 0,33*** |

Примітки: ($p \leq 0,05$) * - відмінності достовірні в порівнянні з інтактною групою; ** - відмінності достовірні в порівнянні з контрольною групою.

Результати проведених морфологічних досліджень свідчать, що в експериментальній групі тварин на тлі місцевого лікування оригінальним апікаційним сорбентом з 0,1 % левофлораксацину очищення рани від гнійно-некротичного детриту відбувається швидше на 1,7 \pm 0,3 доби ($p < 0,05$). Час появи крайової епітелізації ран достовірно не відрізняється від цього показника при використанні препарату-контролю, та відбувається на одну добу раніше ніж в інших групах ($p < 0,05$). Повної епітелізації рана поверхня набуває раніше на 1,7

доби, ніж у тварин з групи, що отримували мазь з сульфадіазином срібла; на 2,4 доби порівняно з тваринами, лікованими сорбентом із сульфаметоксазолом та на 3,5 доби, ніж у групі з аплікацією монсорбенту ($p \leq 0,05$). Площа загоєння інфікованої опікової рани в групі тварин, лікованих сорбентом з левофлораксацином (IV) та препаратом-порівняння – маззю з 1,0 % сульфадіазину срібла (VI), є майже однаковою і дорівнює 95,0 %, при застосуванні сорбента з сульфаметоксазолом (V) - 93,0 %, при використанні монсорбенту (III) – 81,2 %, у групі без лікування (II) – 60,0% (рис.6). Запальні, дистрофічні й гемореологічні зміни у тканинах рани, печінці, селезінці та регіонарних лімфовузлах у групі тварин, лікованих сорбентом з левофлораксацином, виражені помірно.

Ураховуючи динаміку змін досліджуваних показників, можна дійти висновку, що найкращий терапевтичний ефект має аплікаційний сорбент із 0,1 % левофлораксацину, який сприяє швидшій нормалізації вищезгаданих показників в умовах інфекційно-ускладненої термічної травми, що свідчить про виражені антибактеріальні, протизапальні та антиоксидантні властивості препарату.

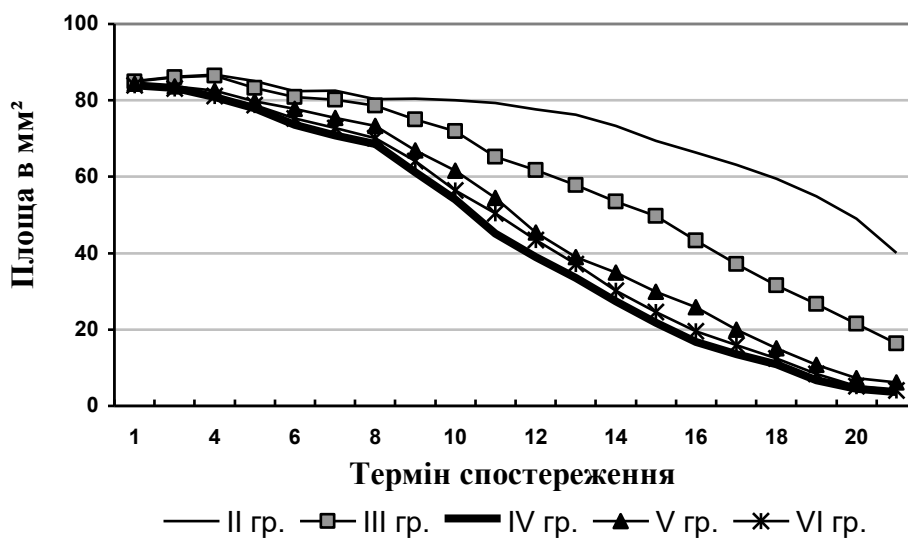


Рисунок 6 - Зміна площі поверхні інфікованих опікових ран у мишей під час лікування досліджуваними сорбентами та контрольним препаратом.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішено наукове завдання, яке полягає у покращенні результатів комплексного лікування інфікованих опікових ран за допомогою місцевого використання нових аплікаційних сорбентів, виготовлених шляхом механосорбційного модифікування високодисперсного діоксиду кремнію при додаванні антибіотиків різних хімічних груп та інших компонентів. Експериментально обґрунтована ефективність біонаноконкомпозитів, які містили 0,1% левофлораксацину та 15% сульфаметоксазолу у комбінації з 0,6% нітрату срібла, 0,6% хлорофіліпту, 3,7% хітозану та 29,0% олії кукурудзи для місцевого лікування опікових ран, інфікованих *P. aeruginosa*.

1. Провідними збудниками ранової опікової інфекції серед грамозитивних бактерій є *S. aureus* (44,0 %), серед грамнегативних - *P. aeruginosa* (16,9 %). Клінічні ізоляти *S. aureus* виявляють варіабельну чутливість до антибіотиків: бета-лактамів (25,0 – 54,0 %), карбапенемів (25,0 – 27,0%), аміноглікозидів (56,7 -

70,2 %), фторхінолонів (61,5 - 68,3 %), глікопептидів (95,2 %). Клінічні штами *P. aeruginosa* характеризуються полірезистентністю та мають наступну чутливість до: бета-лактамів (5,0 - 22,5 %), аміноглікозидів (27,5 - 42,5 %), фторхінолонів (30,0 - 32,5 %), карбапенемів (70,0 - 90,0 %).

2. Експериментальні зразки біонаноккомпозитів володіють вираженою протимікробною активністю щодо клінічних штамів *S. aureus* та *P. aeruginosa* в досліджах *in vitro*. Високоєфективну дію виявляє дослідний сорбент із 0,10 % левофлораксацину, до якого чутливі 100,0 % досліджуваних клінічних штамів стафілококів ((0,49±0,16) мг/л) та 90,0 % штамів синьогнійної палички ((3,75±1,25) мг/л). До сорбенту з 15,0 % сульфаметоксазолу чутливі 65,0 % штамів *P. aeruginosa* ((1125,0±375) мг/л) та 30 % штамів *S. aureus* ((537,5±212,5) мг/л).

3. Запропоновано модель інфікованої опікової рани у лабораторних тварин. Її відтворення передбачає нанесення контактної термічної травми ($\leq 10,0$ % поверхні тіла) та двоетапне інфікування клінічним полірезистентним штамом *P. aeruginosa* ($1,5 \times 10^8$ КУО/мл). Спосіб дозволяє адекватно відтворювати інфіковану опікову рану і використовувати цю модель для дослідження місцевої антибактеріальної дії нових лікарських препаратів в досліджах *in vivo*.

4. Застосування оригінального аплікаційного сорбенту з 0,1 % левофлораксацину забезпечує зниження мікробної контамінованості рани нижче критичного рівня на 3-тю добу ((2,13±0,4)×10³ КУО/мл). Упродовж цього терміну дослідження препарат переважає дію сорбенту з 15,0 % сульфаметоксазолу та мазі з 1,0 % сульфадіазину срібла ($p \leq 0,05$).

5. Аплікаційний сорбент з 0,1 % левофлораксацину за здатністю нормалізувати рівні цитокінів (ІЛ-1 β та ІЛ-4) та гострофазові показники сироватки крові дослідних тварин перевершує дію сорбенту з 15,0 % сульфаметоксазолу та мазі з 1,0 % сульфадіазину срібла ($p \leq 0,05$).

6. Місцеве застосування сорбенту з 0,1 % левофлораксацину супроводжується високою ранозагоювальною активністю та забезпечує повну епітелізацію ранової поверхні у тварин на 2-3 доби раніше порівняно із тваринами інших груп ($p \leq 0,05$), що підтверджується морфологічними дослідженнями (швидке очищення ранової поверхні від гнійно-некротичного детриту та прискорення процесів епітелізації рани). Тим самим, аплікаційний сорбент з 0,1 % левофлораксацину виявляє переваги перед сорбентом з 15,0 % сульфаметоксазолу та маззю з 1,0 % сульфадіазину срібла, що обґрунтовує перспективність його застосування для місцевого лікування ранової опікової інфекції, обумовленої умовно-патогеною флорою.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При опікових ранах II-III ступеня, інфікованих умовно-патогенною мікрофлорою, особливо за умови значного виділення ексудату, доцільним є терапевтичне використання розробленого аплікаційного сорбенту з 0,1 % левофлораксацину.

2. Виражений антибактеріальний та регенеративний ефект нового аплікаційного сорбенту з 0,1 % левофлораксацином, а також можливість безконтактного нанесення препарату, є безсумнівними перевагами розробленого нами засобу та спонукає продовжити подальші дослідження щодо перспективності застосування даного препарату в клінічній практиці під час лікування інфікованих опіків і ран.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В., Воронін Є. П. Сучасний погляд на місцеве лікування опіків з інфекційною складовою (огляд літератури). *Вісник біології та медицини*. 2016. Т.1, № 133. С. 68-72. (Особистий внесок дисертанта полягав у доборі та аналізі літературних джерел, підготовці матеріалів до друку).

2. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В.В. Етіологічна структура та чутливість до антибіотиків основних збудників інфекційних ускладнень у пацієнтів з опіками. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2016. № 3 (72). С. 44-47. (Особистий внесок дисертанта полягав у дослідженні етіології інфекційних ускладнень у хворих з опіками, вивченні антибіотикочутливості основних збудників, аналізі результатів та проведенні статистичної обробки).

3. **Чернякова А. М.,** Мінухин В.В. Оценка эффективности применения аппликационного сорбента оригинального состава для лечения экспериментальной синегнойной ожоговой инфекции. *J. Clin. Exp. Med. Res.* 2017. № 5 (1). С. 698–702. (Особистий внесок дисертанта полягав у виконанні експериментальних досліджень, доборі та обробці матеріалу, участі в написанні та підготовці до друку).

4. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В., Горбач Т.В. Порівняльне дослідження біохімічних показників мишей з опіковою *Pseudomonas*-інфекцією при лікуванні новими апікаційними сорбентами. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2017. № 4 (77). С. 15-21. (Особистий внесок дисертанта полягав у виконанні експериментальних досліджень, доборі та обробці матеріалу, участі в написанні та підготовці до друку).

5. **Чернякова Г. М.** Застосування сорбційних технологій для лікування інфікованих опікових ран в експерименті. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 6 (105). С.793-797. (Web of Science).

6. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В., Воронін Є. П. та ін. Обґрунтування антимікробної ефективності апікаційних біонанокмпозитів для лікування опікової інфекції, спричиненої *S. aureus* та *P. aeruginosa*. *Клінічна хірургія*. 2017. № 12. С. 48-51. (Scopus). (Особистий внесок дисертанта полягав у виконанні експериментальних досліджень, збиранні та статистичної обробці матеріалу, участі в написанні та підготовці до друку).

7. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В., Горголь Н. І. Морфологічні зміни у шкірі мишей з термічними опіками, інфікованими синьогнійною паличкою, у процесі лікування комплексним апікаційним сорбентом. *East European Scientific Journal*. 2017. № 10 (26). part 1. P. 41-44 (Warsaw, Poland) (Особистий внесок дисертанта полягав у виконанні експериментальних досліджень, збиранні та обробці матеріалу, участі в написанні та підготовці до друку).

8. **Chernyakova A. M.** The role of *S. aureus* in the etiological structure of infected wounds in burn patients. *Actual Problems Of Clinical And Theoretical Medicine*: abstr. IXth International Interdisciplinary Scientific Conference Of Young Scientists And Medical Students (Kharkiv, 19-20 May 2016). Kharkiv. 2016. P. 9-10.

9. **Чернякова Г. М.** Вплив наночасток срібла на активність антибіотиків відносно *E. coli* та *S. aureus*. *Youthnanobiotech-2016. Молодіжний форум з нанобіотехнологій*: мат. наук.-практ. конф. з міжнародною участю (м. Київ, 25-26 трав. 2016 р.). Київ. 2016. С. 94.

10. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В. Проблема антибіотикорезистентності *P. aeruginosa* в опіковому стаціонарі. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*: мат. LIX наук. – практик. конф. (Тернопіль, 15 черв. 2016 р.). Тернопіль. 2016. С. 205. (*Особистий внесок дисертанта полягав у збиранні та аналізі літературних джерел, підготовці матеріалів до друку*).

11. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В. Проблема вибору антибактеріальних препаратів при лікуванні хворих з опіковою інфекцією. *Антибактеріальна терапія у XXI сторіччі: проблеми та досягнення*: мат. наук.-практик. конф. за участі міжнар. спец. (Харків, 23 листоп. 2016 р.). Харків. 2016. С. 150-152. (*Особистий внесок дисертанта полягав у збиранні та аналізі літературних джерел, підготовці матеріалів до друку*).

12. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В. Чутливість до антибіотиків *S. aureus* та *P. aeruginosa* як домінуючих аерофільних збудників інфекцій у хворих з опіками. *Медицина XXI століття*: мат. наук.-практик. конф. молодих вчених з міжнар. участю (Харків, 24 листоп. 2016 р.) Харків. 2016. С. 104. (*Особистий внесок дисертанта полягав у визначенні питомої ваги виділених мікроорганізмів, вивченні їхніх спектрів антибіотикочутливості, підготовці матеріалів до друку*).

13. **Чернякова А. М.** Ранозаживляющие свойства аппликационного сорбента у животных с экспериментальной синегнойной ожоговой инфекцией. *Медицина третьего тысячелетия*: мат. міжвуз. конф. молодих вчених та студентів (Харків, 16-17 січ. 2017 р.) Харків. 2017. С.84.

14. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В. Антибактеріальна активність протимікробних сумішей аплікаційного призначення з сульфометаксазолом. *Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями*: мат. наук.-практик. конф. (Харків, 18-19 трав. 2017 р.) Харків. 2017. С.41-42. (*Особистий внесок дисертанта полягав у виконанні експериментальних досліджень, збиранні та обробці матеріалу, участі в написанні та підготовці до друку*).

15. **Cherniakova G. M.,** Minukhin V. V., Minukhin D. V. The role of *P. aeruginosa* in the etiological structure of infected wounds in burn patients. abstr. 58th Annual Meeting of the Austrian Society of Surgery (Vienna, June 28-30, 2017). Vienna. 2017. P.106. (*Особистий внесок дисертанта полягав у дослідженні питомої ваги інфекційних ускладнень у хворих з опіками, викликаних *P. aeruginosa*, підготовці постерної доповіді та матеріалів до друку*).

16. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В., Воронін Є. П. Дослідження антимікробної активності біонаноккомпозитних сумішей відносно референс – штамів *S. aureus* та *P. aeruginosa*. *XV з'їзд товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського*: матеріали з'їзду (Одеса, 11-15 вер., 2017 р.) Одеса. 2017. С. 296. (*Особистий внесок дисертанта полягав у виконанні експериментальних досліджень, збиранні та обробці матеріалів, участі у написанні та підготовці до друку*).

17. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В. Морфологічні особливості регіонарних лімфовузлів мишей з інфікованою опіковою раною при лікуванні аплікаційним сорбентом. *Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine*: abstr. Internat. research and practice conf. (Lublin, October 20–21. 2017.) Lublin, Poland. 2017. P. 160-162. (*Особистий внесок дисертанта полягав у виконанні експериментальних досліджень, збиранні та обробці матеріалів, участі в написанні та підготовці до друку*).

18. **Чернякова Г. М.** Динаміка змін рівнів інтерлейкіну-1 β та інтерлейкіну-4 у мишей з інфікованою опіковою травмою під впливом експериментальних препаратів. *Медицина третього тисячоліття: мат. міжвуз. конф. молодих вчених та студентів* (Харків, 22-24 січ. 2018 р.) Харків. 2018. С.72-73.

19. **Чернякова Г. М.,** Мінухін В. В., Вовк О. О Спосіб вибору антибіотика для лікування опіків, ускладнених інфекційною складовою [інформаційний лист № 166]. Київ. 2017. 3с. (*Особистий внесок дисертанта полягав у відтворенні експериментальної частини, розробленні способу визначення чутливості збудників інфекційних ускладнень у хворих з опіками до антибіотиків*).

20. Шпатель для нанесення порошкових лікарських сумішей на рану: пат. 118267 Україна. № 201702593; заявл. 20.03.2017; опубл. 25.07.2017, Бюл. № 14. 4 с. (*Особистий внесок дисертанта полягав в участі в розробленні пристрою для нанесення порошкових препаратів та підготовці матеріалу до друку*).

21. Інструмент для нанесення порошкоподібних препаратів на ранову поверхню: пат. 118573 Україна. № 201702591; заявл. 20.03.2017; опубл. 10.08.2017, Бюл. № 15. 4 с. (*Особистий внесок дисертанта полягав в участі у розробленні пристрою для нанесення порошкових препаратів та підготовці матеріалу до друку*).

22. Спосіб моделювання інфікованої опікової рани у лабораторних тварин: пат. 123558 Україна. № 2017107370; заявл. 06.11.2017; опубл. 26.02.2018, Бюл. № 4. 4 с. (*Особистий внесок дисертанта полягав у відтворенні експериментальної частини, аналізі результатів, підготовці матеріалів до друку*).

АНОТАЦІЯ

Чернякова Г.М. Експериментальне обґрунтування застосування антибактеріальних препаратів у комбінації з нанокompозитами для лікування опікових інфекцій. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. - Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2018.

Дисертація присвячена підвищенню ефективності лікування інфікованих опікових ран шляхом застосування нових комплексних антимикробних препаратів, виготовлених із використанням нанокompозитних матеріалів та антибіотиків різних хімічних груп.

Встановлено, що провідними збудниками ранової опікової інфекції є *S. aureus* (44,0 %) та *P. aeruginosa* (16,9 %). Клінічні штами стафілококів є високорезистентними до цефтріаксону та карбапенемів; клінічні штами синьогнійної палички характеризуються полірезистентністю.

Доведено, що сорбент з 0,1 % левофлораксацину виявляє високоефективну антибактеріальну дію щодо досліджуваних клінічних штамів стафілококу та синьогнійної палички в дослідах *in vitro*. Щодо сорбенту з 15,0 % сульфаметоксазолу спостерігається низька чутливість клінічних штамів *S. aureus* та помірна чутливість *P. aeruginosa*.

Вперше на моделі опікової рани, інфікованої клінічним штамом *P. aeruginosa*, встановлено, що місцеве застосування сорбенту з 0,1 % левофлораксацину супроводжується високою ранозагоювальною активністю та

забезпечує повну епітелізацію ранової поверхні у мишей на 2-3 доби раніше порівняно із тваринами, які отримували монсорбент (ВДК), сорбент з 15,0 % сульфаметоксазолу та мазь з 1,0 % сульфадіазину срібла ($p \leq 0,05$).

Ключові слова: опікова інфекція, *Pseudomonas aeruginosa*, антибіотикорезистентність, місцеве лікування, аплікаційний сорбент, біонаноккомпозити, експериментальне дослідження.

АННОТАЦІЯ

Чернякова А. М. Экспериментальное обоснование применения антибактериальных препаратов в сочетании с наноккомпозитами для лечения ожоговых инфекций. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.00.07 - микробиология. - Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2018.

Диссертация посвящена повышению эффективности лечения инфицированных ожоговых ран путем применения новых комплексных антимикробных препаратов, изготовленных с использованием наноккомпозитных материалов и антибиотиков разных химических групп.

Установлено, что ведущими возбудителями раневой ожоговой инфекции являются *S. aureus* (44,0 %) и *P. aeruginosa* (16,9 %). Клинические штаммы стафилококков являются высокорезистентными к цефтриаксону и карбапенемам; клинические штаммы синегнойной палочки характеризуются полирезистентностью.

Доказано, что сорбент с 0,1 % левофлоксацина оказывает высокоэффективное антибактериальное действие на исследуемые клинические штаммы стафилококка и синегнойной палочки в опытах *in vitro*. К сорбенту с 15,0 % сульфаметоксазола наблюдается низкая чувствительность у клинических штаммов *S. aureus* и умеренная чувствительность у клинических штаммов *P. aeruginosa*.

Впервые на модели ожоговой раны, инфицированной клиническим штаммом *P. aeruginosa*, установлено, что местное применение сорбента с 0,1 % левофлоксацина сопровождается высокой ранозаживляющей активностью и обеспечивает полную эпителизацию раневой поверхности у мышей этой группы на 2-3 суток раньше по сравнению с животными, получавшими монсорбент (ВДК), сорбент с 15,0 % сульфаметоксазола и мазь с 1,0 % сульфадиазина серебра ($p \leq 0,05$).

Ключевые слова: ожоговая инфекция, *Pseudomonas aeruginosa*, антибіотикорезистентність, місцеве лічення, аплікаційний сорбент, біонаноккомпозити, експериментальне дослідження.

SUMMARY

Cherniakova H. M. Experimental substantiation of applying antibacterial preparations in combination with nanocomposites for treatment of burn infections. - As a manuscript.

The dissertation for scientific degree of the candidate of medical sciences, speciality 03.00.07 – Microbiology (22 – Healthcare). — National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ministry of Public Health of Ukraine, Vinnytsya, 2018.

The dissertation is devoted to the experimental microbiological substantiation of

the application of bionanocomposites for local treatment of infected burn wounds.

It has been established that the leading causative agents of wound burn infection are *S. aureus* (44,0 %) and *P. aeruginosa* (16,9 %). Clinical strains of staphylococci are highly resistant to ceftriaxone and carbapenems; clinical strains of *P. aeruginosa* are multiresistant.

For the first time, the composition of the application bionanocomposites with levofloxacin and sulfamethoxazole were developed. The antibacterial properties of experimental examples in the relation to the museum and clinical strains of *S. aureus* and *P. aeruginosa* have been determined. All strains of staphylococci were sensitive to sorbent with levofloxacin (MIC was $(0,49 \pm 0,16)$). Regarding *P. aeruginosa*, it should be noted that 18 strains (90 %) were sensitive to the proposed dilutions and MIC was $(3,75 \pm 1,25)$ mg/L, while only 2 strains (10 %) found resistance. As for the sorbent with sulfamethoxazole 70 % (28 strains) of staphylococci were not sensitive to the given concentrations. As for the rest 30 %, the MIC was $(537,5 \pm 212,5)$ mg/L. Regarding the clinical isolates of *P. aeruginosa*, 65% (13 strains) were sensitive and MIC was $(1125,0 \pm 375)$ mg/L, which was significantly higher than the MIC values obtained in the study of museum strains ($p < 0,05$).

Analysis of the bacterial contamination of the experimental infectious-complicated burn wounds reveals that using of the original application sorbent with 0,1 % levofloxacin makes it possible to overcome the critical level of microbial contamination of the wound on the third day of treatment. The number of microorganisms isolated from the wound in the animals of this group was $(2,13 \pm 0,4) \times 10^3$ CFU/ml, and was significantly lower in comparison with other groups ($p < 0,001$). In the group with the drug-control the level of contamination was equal $(2,27 \pm 0,4) \times 10^4$ CFU/ml. The using of sorbent with sulfamethoxazole overcame the critical level only on the 7th day, as the using of pure sorbent. High contamination of the wound with *P. aeruginosa* remained during all observation period in the untreated animals.

Due to the results of pathomorphological and histological examination it was established that the infected burn wound was manifested not only by local inflammation, but also as a systemic inflammatory reaction that damaged the organs of the reticuloendothelial system in the flowing of the wound process and there were circulatory and hemorrhological disturbances.

As a result of the biochemical study it was proved that the using of experimental application sorbents and ointments with 1% sulfadiazine of silver contributed to a shortening of the treatment due to their ability to influence on the intensity of synthesis of cytokines and proteins of the acute phase at various stages of healing of a thermal trauma complicated by *P. aeruginosa*. It was established that they had a positive effect on all the periods of the study on the processes of the recovery of prooxidant-antioxidant balance, which makes it possible to recommend the use of drugs of complex sorption and antibacterial action in clinical practice.

Taking into consideration the dynamics of changes in the studied parameters at all stages of the experiment, it can be concluded that the application of a sorbent with 0,1 % levofloxacin had a better therapeutic effect in conditions of infectious-complicated thermal trauma indicated the apparent antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant properties of the drug.

Key words: burn infection, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic resistance, topical treatment, application sorbent, bionanocomposites, experimental study.

Підписано до друку 27.08.2018 р. Замовл. № 492.
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова, Пирогова, 56.

