

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ХЕМОБЕН С ДОБАВЛЕНИЕМ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ



Топилов Исроил Илхом угли¹, Садыков Рустам Аббарович², Мардонов Жамшид Нормуротович²
1 - Ташкентская Медицинская Академия, Республика Узбекистан, г. Ташкент;

2- ГУ «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии им. акад. В. Вахидова», Республика Узбекистан, г. Ташкент

АНТИМИКРОБ ПРЕПАРАТЛАР ҚўШИЛГАН ҲОЛДА ХЕМОБЕН ПРЕПАРАТИНИНГ ГЕМОСТАТИК АКТИВЛИГИНИ ЎРГАНИШ

Топилов Исроил Илхом ўгли¹, Садыков Рустам Аббарович², Мардонов Жамшид Нормуротович²
1 - Тошкент Тиббиёт Академияси, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.;

2 - «Академик В. Вохидов номидаги Республика ихтисослаштирилган хирургия илмий-амалий тиббиёт маркази» ДМ, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

THE RESEARCH OF HEMOSTATIC ACTIVITY OF HEMOBEN WITH THE ADDITION OF ANTIMICROBIAL DRUGS

Topilov Isroil Ilkhom ugli¹, Sadykov Rustam Abrarovich², Mardonov Jamshid Normurotovich²
1 - Tashkent Medical Academy, Republic of Uzbekistan, Tashkent;

2 - Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Surgery named after Academician V. Vakhidov, Republic of Uzbekistan, Tashkent

e-mail: isroil.topilov.tta@gmail.com

Резюме. Мақсад. Целлюлоза маҳсулотларидан олинган препаратнинг турли антимикроб препаратлар қўшилган ҳолда гемостатик ва антимикроб активлигини ўрганиш бўлган. Материал и методлар: Барча текширувлар “В. Вохидов номидаги Республика ихтисослаштирилган хирургия илмий амалий тиббиёт маркази” ДМ ва Эпидемиология, микробиология ва юқумли касалликлар илмий-текишириш институти лабораторияларида олиб борилди. Наъмуналар гастроэнтерит ва пневмония таъхисига шубҳа билан госпитализация қилинган беморлардан олинди. Текширувларда давомда ичак таёқчаси (*Escherichia coli*) ва стафилококкни (*Staphylococcus*) шу беморлардан олиб тайёрланган култураларидан фойдаланилди. Флораларни ажратиш олиш стандарт бактериологик методлар орқали амалга оширилди. Турли хил антисептик-антибиотик-материал комбинацион аралашмалари тайёрланди ва уларнинг адгезион ва гемостатик хусусиятлари текширилди.

Калим сўзлар: гемостаз, целлюлоза, адгезия хусусияти, антисептика, ичак таёқчаси.

Abstract. Objectives: was to study the hemostatic and antimicrobial activity of the drug from cellulose derivatives with the addition of various antimicrobial agents. Material and methods: All studies were carried out in the laboratories of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Surgery named after Academician V.Vakhidov, and the Research Institute of Epidemiology, Microbiology and Infectious Diseases. Samples were obtained from patients hospitalized with suspected gastroenteritis and pneumonia. The studies used cultures of *Escherichia coli* and *staphylococcus* obtained from these patients. The bacterial flora was released by standard bacteriological methods. Various combinatorial mixtures of antiseptic-antibiotic were prepared and their adhesive and hemostatic properties were studied.

Keywords: hemostasis, cellulose, adhesion property, antiseptic, *escherichia coli*

Введение: Основной проблемой любого хирургического вмешательства является эффективный гемостаз и предупреждение инфекционных осложнений в ране [1]. Местные гемостатические препараты активно используются для остановки паренхиматозных капиллярных кровотечений, в то же время формирование тромба на

поверхности раны с вовлечением имплантатов, как активного действующего начала, может послужить причиной асептического, а в последующем микробного воспалительного процесса. Особенно часто раневые осложнения встречаются при использовании местных гемостатических средств из целлюлозы (марлевые тампоны, сал-

фетки), коллагена (гемостатическая губка) и др. [1,2,11-13]. В связи с этим нередко в местные гемостатические средства добавляют антисептики, либо антибиотики для предупреждения развития инфекции в ране [11].

В наших исследованиях изучена гемостатическая и антимикробная активность препарата из производных целлюлозы с добавлением различных антимикробных препаратов.

Материал и методы: Исследования выполнены в условиях *in vitro* в лаборатории экспериментальной хирургии ГУ «РСНПМЦХ имени акад. В.Вахидова». Местное гемостатическое средство Хемобен представляет собой мелкодисперсный порошок из производных целлюлозы, бело-кремового цвета, растворимый в воде. Оказывает быстрый гемостатический эффект вследствие формирования полупрозрачной пленки фиксированной за счет высокой адгезивности к раневой поверхности. Пролонгированный гемостатический эффект основан на депонировании активного начала в коллоидной структуре пленки [5-8].

Для получения комбинированного препарата к порошку Хемобен добавляли антимикробный препарат и доводили, перемешивая до состояния 2% геля (при необходимости добавляли дистиллированную воду). Полученную массу высушивали при комнатной температуре и измельчали до состояния порошка. Порошок стерилизовали методом радиационного облучения с дозой 25 Грей.

Гемостатическая активность изучена на образцах крови доноров добровольцев с исследованием времени свертывания цельной крови по Ли-Уайту

Для исследования ВСК в пробирку с донорской кровью добавляли комбинированный порошок Хемобен из расчета 30мг на 2 мл венозной крови. Пробирку помещали в водяную баню при

37° и через каждые 5 сек. наклоняли под углом 45°, фиксируя время появления сгустка.

Исследование адгезии проводилось по способности препарата «склеивать» две стеклянные пластинки. Для этого использовали прибор, представляющий собой коромысло с равными плечами, на одно из плеч которого подвешивалась стеклянная пластинка, на другое – контейнер для грузиков. На стеклянную пластинку 1x1см, фиксированной к столу, наносили 10 мг комбинированного порошка и добавляли 2 капли дистиллированной воды. Второй пластинкой 1x1см, соединенной с плечом коромысла, придавливали сформированный гель. Путем подвешивания стандартных грузиков определяли момент отхождения покровной пластинки. Силу адгезии (F) в н рассчитываем по формуле:

$$F=m \cdot g;$$

m – масса,

g – ускорение свободного падения, равно 9,8 N/кг.

Тогда F приводит к ньютонам (N).

Для перевода единиц измерения в Паскаль производили перерасчет по формуле:

$$Pa=F/S.$$

S - площадь

В качестве антимикробных препаратов использовали: метиленовую синь, бетадин, форгалс, метронидазол, цефтриаксон (табл.1).

Микробиологические исследования: Все исследования и опыты проводились в микробиологической лаборатории ГУ «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии имени В.Вахидова» и бактериологической лаборатории «НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней» в соответствии с установленными нормами и инструкциями СанПиН.

Таблица 1. Антимикробные препараты

№	Наименование образцов	Форма выпуска*
1.	Metronidazole	Порошок
2.	Ceftriaxone	Порошок
3.	Methylenum coeruleum	Порошок
4.	FARGALS	Раствор
5.	Betadine	10% (повидон-йод) водный раствор

* Все образцы использовали в виде 10% водных растворов в количестве 1мл на 10мг порошка Хемобен.

Таблица 2. Результаты воздействия экспериментальных образцов на бактериальные культуры

№	Антимикробные препараты	Escherichia coli	Staphylococcus aureus
1.	Metronidazole	8,2 ± 0,2 мм	10,7±0,2 мм
2.	Ceftriaxone	6,1± 0,1 мм	24,7± 0,5 мм
3.	Methylenum coeruleum	21,4± 0,3 мм	23,2± 0,3 мм
4.	FARGALS	14,6± 0,2 мм	19,8± 0,2 мм
5.	Betadine	15,9± 0,3 мм	17,1± 0,2 мм

P < 0,05

Таблица 3. Результаты воздействия экспериментальных образцов на время свертывания крови

№	Наименование образцов	Время свертывания крови(сек)
1.	Норма	321±9,6
2.	Хемобен	40±7,9
3.	Хемобен + Metronidazole	77±5,7
4.	Хемобен +Ceftriaxone	79±6,5
5.	Хемобен+ Methyleneum coeruleum	52±4,5
6.	Хемобен +FARGALS	70±6,1
7.	Хемобен + Betadine	61±4,2

P < 0,05

Таблица 4. Результаты воздействия экспериментальных образцов на адгезионные свойства

№	Наименование образцов	Адгезивность (КПа)
1.	Хемобен	8,65±0,04
2.	Хемобен +Ceftriaxone	7,85±0,04
3.	Хемобен +Methyleneum coeruleum	6,55±0,03
4.	Хемобен +FARGALS	3,35±0,02
5.	Хемобен +Betadine	5,5±0,03
6.	Хемобен +Metronidazole	8,12±0,04

* P < 0,05

Выделение флоры проводили стандартными бактериологическими методами. У больных забирали образец, высаживали на универсальную питательную среду, а после роста общей культуры нужный штамм был размножен на отдельной питательной среде. Образовавшиеся колонии учитывали с использованием традиционного способа подсчета КОЭ с помощью «счетчика кликов» и ручки. Клинический уровень бактериальных колоний равнялся 10^6 - 10^8 КОЭ/мл. В качестве представителя класса Гр-: *Escherichia coli* и представителя класса Гр+: в испытаниях использовали культуры золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) [3,4].

Для образцов колоний (таб.2) готовили 2% гелиевые смеси с различными комбинациями антисептиков и антибиотиков и оценивали их действие. Образцы были разделены на 5 групп (таб.1). Всего было исследовано и сопоставлено 25 образцов.

Рост исследуемых штаммов бактерий оценивали при помощи метода «лунок» [Нетрусов,2005]. Стерильную среду – рыбо-пептонный агар (РПА) – разливали в чашки Петри с диаметром 5 см. После застывания среды в центре чашки стерильным сверлом с диаметром 0,6 см вырезали лунку. Далее проводили посев тест-культур методом «газона», нанося пипеткой каплю суспензии тест-культуры на поверхность среды и растирая её по поверхности стерильным шпателем. В лунку вносили исследуемые образцы препарата в объеме 50 мкл в виде 2% геля. Контролем служил посев тест-культур на чашки Петри с РПА без внесения в лунки исследуемых соединений. Посевы инкубировали при +30 °С, через 24 ч проводили регистрацию результатов: отмечали проявления

бактерицидного или бактериостатического действия тестируемых веществ. Радиус зоны подавления роста микроорганизмов вокруг лунки с исследуемым веществом измеряли с помощью миллиметровой линейки.

Статистическая обработка выполнялась с использованием программ статистической обработке «BS – Statistica» с помощью специальных электронных таблиц Microsoft Office Excel 2016.

Результаты исследований: Результаты показали, что порошок гемостатический Хемобен статистически значимым антимикробным действием не обладает.

При добавлении к порошку Хемобен метиленовой сини проявлял выраженный бактерицидный эффект в отношении гр отрицательной флоры, и в большей степени на Гр+ бактерии.

Добавление к гемостатическому препарату антисептического средства Форгалс оказывал умеренный бактерицидный эффект в отношении Гр- флоры и культуры Гр+ микробов. Добавление антисептика бетадин (повидон-йод 10%) оказывал умеренный антимикробный эффект в отношении Гр- культуры и Гр+культуры.

Добавление к препарату Хемобен антибиотика Цефтриаксон проявлял высокий бактерицидный эффект на Гр+ культуру и слабый бактерицидный эффект на Гр-культуру. Добавление препарата метрогил (метронидазол 0,5%) оказывал слабое действие на культуры обеих групп по сравнению с представителями других групп (табл. 2).

Хемобен в исходном состоянии оказывал выраженный гемостатический эффект и формирование тромба достигнуто в течение 40±7,9 секунд. При добавлении антисептических препара-

тов время гемостаза составило $52 \pm 4,5$ секунд с метиленовой синью и $61 \pm 4,2$ секунд с бетедином (табл. 3).

Снижение гемостатической активности отмечено при добавлении антибиотика цефтриаксон (составили $79 \pm 6,5$ секунд) и в присутствии метронидазола ($77 \pm 5,7$ секунд) (табл. 3).

Примечательно, что при сравнении всех групп время свертывания составило менее 100 секунд в сравнении с эталонным временем свертывания крови (табл. 3).

Адгезивная активность Хемобена является одним из основных действующих начал гемостатика, который обеспечивает практически мгновенный гемостаз. В исходном состоянии адгезивная активность Хемобен составляет $8,65 \pm 0,04$ КПа. При добавлении противомикробных препаратов адгезивная активность Хемобен снижалась в разной степени: с метронидазолом ($8,12 \pm 0,04$ КПа), цефтриаксоном ($7,85 \pm 0,04$ КПа) и метиленовой синью ($6,55 \pm 0,03$ КПа) (табл. 4).

Выводы. На основании анализа результатов исследований можно заключить, что добавление антимикробных препаратов в местное гемостатическое средство Хемобен не приводит к существенным изменениям гемостатической активности и адгезивности, в то время как существенно возрастает бактерицидный эффект. Наибольшая бактерицидная активность в отношении грам положительных и грам отрицательных микробов прослежена с метиленовой синью, бетедином и антисептиком Форгалс. Вышеизложенное позволяет рекомендовать разработку гемостатических препаратов на основе производных целлюлозы с антимикробным воздействием, что несомненно будет способствовать улучшению результатов оперативных вмешательств.

Литература:

1. Khoshmohabat H. et al. A review of the application of cellulose hemostatic agent on trauma injuries //Open access emergency medicine: ОАЕМ. – 2019. – Т. 11. – С. 171.
2. Lewis K. M. et al. Comparison of regenerated and non-regenerated oxidized cellulose hemostatic agents //European Surgery. – 2013. – Т. 45. – №. 4. – С. 213-220.
3. Li W. et al. Biosynthesis of plant hemostatic dencichine in *Escherichia coli* //Nature Communications. – 2022. – Т. 13. – №. 1. – С. 1-9.
4. Liesenborghs L., Verhamme P., Vanassche T. *Staphylococcus aureus*, master manipulator of the human hemostatic system //Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2018. – Т. 16. – №. 3. – С. 441-454.

5. Ong S. Y. et al. Development of a chitosan-based wound dressing with improved hemostatic and antimicrobial properties //Biomaterials. – 2008. – Т. 29. – №. 32. – С. 4323-4332.

6. Severinov D. A. et al. In vitro Evaluation of Performance Properties of Sponge Hemostatic Dressings //Современные технологии в медицине. – 2020. – Т. 12. – №. 1 (eng). – С. 139-146.

7. Sun H. et al. Nanotechnology-enabled materials for hemostatic and anti-infection treatments in orthopedic surgery //International journal of nanomedicine. – 2018. – Т. 13. – С. 8325.

8. Tapper H., Herwald H. Modulation of hemostatic mechanisms in bacterial infectious diseases //Blood. – 2000. – Т. 96. – №. 7. – С. 2329-2337.

9. Wheat J. C., Wolf J. S. Advances in bioadhesives, tissue sealants, and hemostatic agents //Urologic Clinics. – 2009. – Т. 36. – №. 2. – С. 265-275.

10. Yang Y. et al. Mussel-inspired adhesive antioxidant antibacterial hemostatic composite hydrogel wound dressing via photo-polymerization for infected skin wound healing //Bioactive materials. – 2022. – Т. 8. – С. 341-354.

11. Yu P., Zhong W. Hemostatic materials in wound care //Burns & Trauma. – 2021. – Т. 9.

12. Zhang S. et al. Oxidized cellulose-based hemostatic materials //Carbohydrate polymers. – 2020. – Т. 230. – С. 115585.

13. Zimnitsky D. S., Yurkshovich T. L., Bychkovsky P. M. Synthesis and characterization of oxidized cellulose //Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry. – 2004. – Т. 42. – №. 19. – С. 4785-4791.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ХЕМОБЕН С ДОБАВЛЕНИЕМ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Топилов И.И., Садыков Р.А., Мардонов Ж.Н.

Резюме. Целью исследования явилось изучение гемостатической и антимикробной активности препарата из производных целлюлозы с добавлением различных антимикробных препаратов. Материалы и методы: Все исследования проводились в лабораториях ГУ «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии имени В. Вахидова» и НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней. Образцы были получены от пациентов, госпитализированных с подозрением на гастроэнтерит и пневмонию. При исследованиях использовали культуры кишечной палочки и стафилококка, полученные от этих больных. Выделение флоры проводили стандартными бактериологическими методами. Были приготовлены различные комбинаторные смеси антисептик-антибиотик и исследованы их адгезионные и кровоостанавливающие свойства.

Ключевые слова: гемостаз, целлюлоза, адгезионное свойство, антисептика, кишечная палочка.