

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2024-28(3)-03

УДК: 615.281:616-002.3

РОЛЬ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІКУВАЛЬНОЇ СУМІШІ НА ОСНОВІ КОЛАГЕНАЗИ ПРИ ЛІКУВАННІ ІНФІКОВАНИХ РАН В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Рауцкіс В. П., Хімич С. Д.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 56, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: rautskisvik@gmail.com

Статтю отримано 01 липня 2024 р.; прийнято до друку 02 серпня 2024 р.

Анотація. Інфекція є основною причиною затримки нормального процесу загоєння рани будь-якого генезу. Враховуючи негативний вплив мікроорганізмів на процес загоєння рани, протимікробна активність є необхідною складовою сучасних місцевих препаратів для лікування ран. Мета - вивчити протимікробний вплив лікувальної суміші на основі колагенази (Іруксан) і типові збудники ранової інфекції та порівняти його з іншими засобами для лікування гнійно-некротичних ран. Протимікробні властивості досліджуваних засобів оцінювали методом "колодязів", визначали мінімальні бактеріостатичні та бактерицидні концентрації, швидкість незаражувальної дії штучно контамінованих тест-об'єктів. Для відтворення ранової інфекції у піддослідних щурів моделювали рану та контамінували її патогенним штамом *Staphylococcus aureus* у комбінації із *Pseudomonas aeruginosa*, котрі є типовими збудниками ранової інфекції у хірургічних пацієнтів. Через добу у піддослідних тварин усіх груп кількість тест-мікроорганізмів обох видів у вмісті ран була приблизно однаковою та становила в межах $6,6 \pm 0,1$ - $6,9 \pm 0,1$ Іг КУО/мл. На 3-тю добу від початку лікування спостерігали тенденцію до зменшення кількості стафілококів і синьогнійних паличок у групах тварин, яких лікували із застосуванням мазей мірамістину й Іруксану, порівняно з тваринами контрольної групи ($p > 0,05$). На 7-му добу в групах тварин, що лікувалися мірамістином й Іруксаном, кількість стафілококів і псевдомонад була нижчою - $3,5 \pm 0,4$ Р. а., $4,8 \pm 0,1$ S. а. та $2,3 \pm 0,64$ Р. а., $4,8 \pm 0,2$ S. а. ($p < 0,05$), ніж у контрольній групі. Отже, мазь Іруксан, незважаючи на нижчу концентрацію в складі антисептика мірамістину (2000 мкг/мл), має виражену протимікробну активність завдяки наявності протеолітичного ферменту - колагенази, що викликає лізис некротичних тканин та механічно очищує ранову поверхню від досліджуваних збудників.

Ключові слова: рана, інфікована рана, рановий процес, щурі, MRSA, стафілокок, синьогнійна паличка, протимікробна активність, колагеназа, Іруксан.

Вступ

На сьогодні більшість пацієнтів хірургічного профілю мають рани різного походження [2, 8, 11]. Водночас хірургічна патологія залишається основною причиною більшості внутрішньолікарняних інфекцій у системі охорони здоров'я різних країн світу. За даними Європейського центру з профілактики та контролю захворювань, за 2017 рік в 1 639 лікарнях у всьому Європейському Союзі було зареєстровано від 0,5% до 10,1% випадків гострої ранової інфекції залежно від виду хірургічної процедури [6]. До найбільш поширених патогенних мікроорганізмів, які спричиняють гострі ранові інфекції, належать такі грампозитивні бактерії, як золотистий стафілокок і ентерокок; грамнегативні - синьогнійна паличка, яка становить великі труднощі у лікуванні, спричиняючи значну захворюваність і смертність; а також гриби *Candida spp.* і *Aspergillus spp.* Причому надзвичайно важливо зауважити, що деякі штами цих мікроорганізмів стійкі до антибіотиків [13, 14]. Інфекція є основною причиною затримки нормального процесу загоєння ран при первинному закритті, зокрема при травматичних ранах, опіках і хронічних виразках шкіри [10, 13]. На особливу увагу заслуговують хронічні рани. Найбільш поширеними патогенами, що виявляються у хронічних ранах, є аеробні бактерії, а саме: золотистий стафілокок, синьогнійна паличка та бета-гемолітичні стрептококи. Саме ця флора найчастіше є причиною затримки нормального загоєння ран та розвитку інфекційних ускладнень

[7, 10]. Усе це сприяє росту колоній бактеріальної флори в рані з утворенням біоплівки. Зі свого боку біоплівка підсилює і порушує регуляцію процесу запалення, ускладнюючи і перешкоджаючи формуванню екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) і відновленню тканин [15]. Крім того, білки ЕЦМ пошкоджуються під впливом активних форм кисню, що у великій кількості утворюється при накопиченні запальних клітин у дні рани [15]. Такий стан несе суттєві ризики для пацієнта виникненням ускладнень, що можуть навіть загрожувати життю.

На сьогодні у випадку різних за походженням ран наукові і практичні підходи до лікування ґрунтуються на знаннях про біологічні механізми загоєння ран і повинні впливати на всі процеси, які відбуваються в різних фазах ранового процесу [5]. Враховуючи ефект пошкодження, який чинить розмноження і вегетація будь-яких мікроорганізмів у рані, важливо, щоб багатокomпонентні препарати, що використовуються для лікування інфікованих ран, мали протимікробний ефект [3].

Мета - вивчити протимікробний вплив лікувальної суміші на основі колагенази ("Іруксан") і типові збудники ранової інфекції та порівняти його з іншими засобами для лікування гнійно-некротичних ран.

Матеріали та методи

Дослідження виконували на базі кафедри загальної хірургії, бактеріологічної лабораторії кафедри мікробіо-

логії та експериментальної клініки (віварію) Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Комітетом з біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова в результаті проведеної експертизи відповідно до положень комітету встановлено, що матеріали дослідження не заперечують основним біоетичним нормам Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиві ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р., наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. (протокол № 6 від 3 жовтня 2022 р.).

Експериментальне дослідження проводили на 64 білих лабораторних щурах (самцях) з масою тіла від 180 до 240 г. Щурів утримували відповідно до загальноприйнятих норм, усі тварини перебували в однакових умовах. Після премедикації виконували анестезію шляхом внутрішньом'язового введення кетаміну. У міжлопатковій ділянці моделювали стандартизовану рану розміром 1,5 x 1,5 см з висіченням шкіри, підшкірної клітковини і поверхневої фасції. Для відтворення ранової інфекції рану контамінували патогенним штамом *Staphylococcus aureus* у комбінації з *Pseudomonas aeruginosa* в концентрації 1 млрд мікробних тіл в 1 мл рідини. У дослідженні використовували 6 клінічних штамів бактерій (3 штами *S. aureus* і 3 штами *P. aeruginosa*), що зберігаються у музеї живих культур кафедри мікробіології ВНМУ ім. М. І. Пирогова. Потім рану закривали асептичною марлевою пов'язкою. Через 1 добу від моменту створення експериментальної рани і після отриманого позитивного результату на предмет контамінації досліджуваною флорою, розпочинали дослідження. Щурі були розподілені на 4 групи по 16 тварин у кожній: 0 - контрольна група (без лікування); I - для лікування використовувався гель "Іруксан"; II - використовувалася мазь "Левомеколь"; III - використовувалася мазь "Мірамістин". Щоденні перев'язки проводили впродовж наступних 14 днів у всіх тварин. Після зняття пов'язки оцінювали місцеві зміни в рані та навколишніх тканинах, проводили поетапну фотофіксацію досліджуваних ран і бактеріологічний посів із рани з подальшою ідентифікацією культури.

Вибір препаратів для використання у групах порівняння в експерименті був не випадковим, а ґрунтувався на результатах ретроспективної оцінки історій хвороб пацієнтів, які перебували на стаціонарному лікуванні в хірургічному відділенні КНП ВМКЛ №1 та Університетській клініці ВНМУ ім. М. І. Пирогова у 2015-2023 роках із гнійно-некротичними процесами м'яких тканин. Як з'ясувалось, мазі "Левомеколь" і "Мірамістин" використовувались досить часто при лікуванні ран у I фазі ранового процесу, що й стало причиною вибору нами даних препаратів для порівняння в експерименті у ролі традиційних лікувальних засобів.

Протимікробні властивості досліджуваних мазевих лікарських форм оцінювали методом "колодязів". Мінімальні бактеріостатичні (МБСК) та бактерицидні

(МБЦК) концентрації препаратів визначали методом послідовних серійних розведень антибіотиків у рідкому поживному середовищі. Швидкість знезаражувальної дії мазевих препаратів визначали методом штучно контамінованих тест-об'єктів. Як тест-об'єкти використовували стерильні пластинки свинячої ліофілізованої шкіри, яка застосовується для ксеноімплантації у комбустіології. Бактеріологічний контроль процесу загоювання експериментальних ран здійснювали шляхом висіву ранового вмісту напівкількісним чашковим методом на агар Колумбія з 5% баранячої крові (GRASO biotech, Польща).

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою програми STATISTICA 64 v12. Stat Soft. Inc. та Microsoft Office Excel 2016.

Протокол дослідження схвалений комісією з біомедичної етики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова № 3 від 3 квітня 2023 р.

Дослідження виконано в межах НДР Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова "Ушкодження: механічні, фізичні, хімічні та біологічні причини: механізми розвитку, діагностика та лікування", номер державної реєстрації НДР: 0121U110669.

Результати. Обговорення

З метою скринінгового якісного визначення наявності у досліджуваних препаратів протимікробного впливу на клінічні стійкі до антибіотиків штами мікроорганізмів було проведено дослідження методом "колодязів" щодо клінічного штаму метицилінрезистентних *S. aureus* №72. Виявлено однакові зони затримки росту діаметром близько 2,6 мм, які культура клінічного штаму золотистих стафілококів утворила навколо лунок, заповнених мазями мірамістин-дарниця та іруксан. Це свідчить про наявність протимікробної дії у згаданих препаратів. Біля лунки з левомеколем зона затримки росту становила менше 1 мм від краю отвору, що демонструє відсутність інгібуєної дії на ріст тестової культури бактерій.

З метою кількісного визначення рівня протимікробної активності кожного з досліджуваних препаратів нами встановлені середні значення мінімальних бактеріостатичних (МБСК) та бактерицидних концентрацій (МБЦК) для трьох клінічних антибіотикостійких штамів стафілококів і для трьох штамів відомого резистентністю до хімічних впливів ранового патогена *P. aeruginosa*. Для порівняння і виявлення можливих впливів допоміжних речовин на протимікробну активність основної діючої антибактеріальної компоненти паралельно визначена протимікробна активність щодо тих самих штамів водних розчинів левоміцетину і мірамістину. Результати узагальнені в таблиці 1, концентрації наведені у мкг/мл у розрахунку на вміст діючої протимікробної речовини в готовій лікарській формі.

Слід звернути увагу на те, що використані у дослідженні штами бактерій були зовсім нечутливими до ле-

Таблиця 1. Характеристика рівня протимікробної активності досліджуваних препаратів щодо клінічних штамів стафілококів і синьогнійних паличок.

Досліджуваний препарат	Вид бактерій			
	<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК
Мірамістин (розчин)	4,1±1,1	26,0±8,7	>500,0	>500,0
Мірамістин (мазь)	10,4±3,5	65,1±21,7	416,7±138,9	1041,7±277,8
Іруксан	10,4±3,5	52,1±17,4	н/в*	2000,0±0,0
Левоміцетин (розчин)	>5000,0	>5000,0	>5000,0	>5000,0
Левомеколь	104,2±27,8	>3750,0	н/в*	>3750,0

Примітка. н/в - не визначалось.

Таблиця 2. Швидкість повного знезараження інфікованих стафілококами і псевдомонадами тест-об'єктів левомеколем, іруксаном та маззю мірамістину.

Час занурення у препарат (год.)	Препарат		
	Левомеколь	Іруксан	Мірамістин
1	+	+	+
2	+	+	-
4	+	+	-
8	+	+	-
12	+	+	-
24	+	-	-
48	+	-	-
72	+	-	-

Примітки: "+" - наявність росту бактерій; "-" - відсутність росту бактерій.

воміцетину і бактериостатичного ефекту не спостерігалось при максимальній дослідженій концентрації препарату (5000 мкг/мл). Мірамістин пригнічував розмноження стафілококів у концентрації 4,1±1,1 мкг/мл, проте для пригнічення росту палички синьо-зеленого гною необхідною була значно вища концентрація (>500,0 мкг/мл).

Порівняльне дослідження готових мазевих лікарських форм показало наявність протистафілококової активності в усіх досліджуваних мазей. Водночас мазі, що містили у своєму складі мірамістин, зупиняли вегетацію стафілококів при концентрації основної діючої протимікробної речовини 10,4±3,5 мкг/мл, бактерицидного ефекту в розведеннях мазі мірамістин-дарниця досягали при концентрації 65,1±21,7 мкг/мл, а іруксан - у ще меншій (52,1±17,4 мкг/мл). Навіть у розведеннях левомеколю спостерігали бактериостатичний ефект щодо стафілококів у концентрації левоміцетину 104,2±27,8 мкг/мл, що можна пояснити комплексним впливом на бактерії основної діючої та допоміжних складових препарату. Тут слід зазначити, що бактерицидної дії мазь левомеколь на стафілококи не чинила навіть у першому розведенні препарату в поживному середовищі у

співвідношенні 1:1 (концентрація левоміцетину - 3750,0 мкг/мл).

Протимікробна активність досліджуваних мазей щодо *P. aeruginosa* була значно нижчою. Бактеріостатичну дію іруксану визначити було неможливо в зв'язку з тим, що у перших розведеннях помутніння середовища обумовлене складовими препарату. Бактерицидний ефект на псевдомонади був досяжним тільки у цілісному (не розведеному) препараті (концентрація мірамістину - 2000,0 мкг/мл). Мірамістинова мазь гальмувала розмноження *P. aeruginosa* при концентрації антисептика 416,7±138,9 мкг/мл, а бактерицидна дія досягала у концентрації основної діючої речовини 1041,7±277,8 мкг/мл. Враховуючи, що концентрація мірамістину у складі мазі мірамістин-дарниця становить 5000 мкг/мл, а у складі іруксану - 2000 мкг/мл, слід очікувати при використанні обох препаратів досягнення протимікробного ефекту щодо клінічних полірезистентних до антибіотиків штамів стафілококів і псевдомонад.

Для порівняльної оцінки швидкості досягнення сануючого ефекту вказаними препаратами в умовах їх використання на інфікованих біологічних об'єктах ми провели дослідження знезараження інфікованих клінічними штамми стафілококів і псевдомонад шматочків свинячої шкіри цілісними (нерозведеними) левомеколем, іруксаном та маззю мірамістину. Свиняча шкіра була обрана як тест-об'єкт у зв'язку з найбільшою схожістю за здатністю адсорбувати бактерії з поверхневими тканинами організму людини.

Аналіз даних (табл. 2) щодо швидкості знезараження штучно інфікованих тест-об'єктів сумішшю стафілококів і псевдомонад досліджуваними препаратами свідчить про високий рівень знезаражувальних властивостей у мазі мірамістину, оскільки вже після 2-годинного перебування інфікованого тест-об'єкта в цьому препараті життєздатні бактерії на його поверхні були відсутніми. Відсутність знезаражувальної дії щодо клінічних штамів бактерій встановлено в мазі левомеколь: навіть після 72-годинного занурення у препарат ефекту повного знезараження тест-об'єкта не досягнуто. Мазь іруксан виявила помірні знезаражувальні властивості. Життєздатні клітини стафілококів і псевдомонад виявлялись після 12-годинного занурення інфікованого тест-об'єкта у препарат. Однак після добової експозиції впливу іруксану було досягнуто повного знищення мікроорганізмів на поверхні тест-об'єктів.

Отже, результати дослідження протимікробної активності мазей мірамістин, іруксан та левомеколь щодо клінічних антибіотикорезистентних штамів найбільш частих ранових патогенів стафілококів і псевдомонад *in vitro* дозволяють прогнозувати досягнення належного сануючого ефекту в клінічних умовах для препаратів мазь мірамістин та іруксан. Слід зазначити, що іруксан характеризується нижчими порівняно з маззю мірамістину показниками швидкості знезараження біологічної поверхні. Однак це переконливо пояснюється у 2,5

Таблиця 3. Характеристика швидкості санації експериментальних ран від бактеріальної мікрофлори у тварин, пролікованих різними засобами.

Термін спостереження (доба)	Використаний препарат							
	Контрольна група		Мірамістин		Іруксан		Левомеколь	
	Вид і кількість (lg КУО/мл) бактерій							
	<i>P.a</i>	<i>S.a</i>	<i>P.a</i>	<i>S.a</i>	<i>P.a</i>	<i>S.a</i>	<i>P.a</i>	<i>S.a</i>
1	6,6±0,1	6,9±0,1	6,7±0,1	6,7±0,1	6,6±0,1	6,8±0,1	6,6±0,1	6,7±0,1
3	5,2±0,3	5,5±0,2	4,8±0,1	4,7±0,2	4,6±0,1	4,9±0,2	6,2±0,2	5,6±0,3
7	4,7±0,6	5,7±0,2	3,5±0,4	4,8±0,1	2,3±0,6	4,8±0,2	5,1±0,4	4,9±0,1
10	4,5±0,5	4,6±0,1	3,1±0,2	3,6±0,1	2,3±0,2	2,9±0,2	3,4±0,4	3,6±0,3
14	4,2±0,3	6,5±0,2	0	0	0	0	3,1±0,3	3,3±0,1

Примітки: *P.a* - *Pseudomonas aeruginosa*; *S.a* - *Staphylococcus aureus*.

рази меншою концентрацією антисептика мірамістину у цьому препараті.

На наш погляд, в умовах клінічного застосування ще одна діюча речовина іруксану - протеолітичний фермент колагеназа, яка забезпечує видалення некротичних тканин і сприяє механічному очищенню ранової поверхні, здатна компенсувати малу концентрацію антисептика в складі препарату. Це збігається з думкою інших дослідників [9], які встановили, що в ранах, оброблених колагеназою, зменшення кількості бактерій у грамі тканини і, як наслідок, загоєння відбувалося за коротший проміжок часу. Різними авторами було зроблено висновок про те, що сприяння колагенази загоєнню рани внаслідок зниження бактеріального навантаження пов'язане з її ферментативним впливом на некротизовані тканини і на мікроорганізми [1, 11].

Результати бактеріологічного контролю процесу загоювання ран продемонстрували прискорений темп вивільнення поверхні експериментальних ран від мікроорганізмів у тварин дослідних груп порівняно з контрольною (табл. 3).

Через добу після інфікування експериментальних ран у піддослідних тварин усіх груп кількість тест-мікроорганізмів обох видів у вмісті ран була приблизно однаковою та коливалась в межах 6,6±0,1 - 6,9±0,1 lg КУО/мл. На 3-тю добу від початку лікування спостерігали тенденцію до зменшення кількості стафілококів і псевдомонад у групах тварин, яких лікували із застосування мазей мірамістину й іруксану, порівняно з тваринами контрольної групи. Однак ця різниця була статистично недостовірною ($p > 0,05$). У групі тварин, пролікованих левомеколем, у той же час спостереження кількість клітин *P. aeruginosa* статистично достовірно ($p < 0,05$) зросла.

На 7-му добу спостереження помітно знизилась кількість тест-мікроорганізмів порівняно з початковою навіть у контрольній групі. У групах тварин, що лікувалися мірамістином й іруксаном, кількість стафілококів і псевдомонад була статистично достовірно ($p < 0,05$) нижчою, ніж у контрольній групі. Водночас елімінація псев-

домонад із вмісту рани відбувалась швидше, ніж стафілококів. Наприклад, у групі тварин, пролікованих маззю мірамістину, кількість синьогнійних паличок з 6,7±0,1 lg КУО/мл у 1-й день спостереження зменшилась до 3,5±0,4 lg КУО/мл, тоді як кількість стафілококів з 6,7±0,1 lg КУО/мл лише до 4,8±0,1 lg КУО/мл. У групі тварин, пролікованих левомеколем, кількість стафілококів до 7-го дня спостереження теж зменшилась майже на 2 lg, кількість псевдомонад почала знижуватися, проте залишалась вищою, ніж у той же термін у тварин контрольної групи.

На 10-й день спостереження ефект санації вмісту ран від тест-мікроорганізмів спостерігався у тварин усіх дослідних груп, адже незалежно від використаного засобу топічного лікування, кількість стафілококів і псевдомонад у тварин дослідних груп була статистично достовірно ($p < 0,05$) меншою, ніж у тварин контрольної групи.

На 14-й день спостереження кількість бактерій у вмісті ран тварин контрольної групи була меншою, ніж на початку моделювання, однак залишалась на достатньо високому рівні. Кількість псевдомонад продовжувала зменшуватись, а кількість стафілококів навіть зросла порівняно з 10-м днем спостереження. У групі тварин, пролікованих левомеколем, до 14-го дня кількість стафілококів і псевдомонад у вмісті ран зменшилась більш ніж у 1000 разів порівняно з початковою. Проте повної санації від тест-бактерій не відбулося і кількість бактерій кожного виду була близькою до 3 lg КУО/мл. У групах тварин, пролікованих маззями мірамістину та іруксаном, на 14-й день спостереження поверхня ран була вільною від штучно внесених на поверхню мікроорганізмів.

Узагальнюючи результати бактеріологічного дослідження щодо контролю процесу загоювання ран, які були штучно контаміновані стійкими до антибіотиків штамми стафілококів і псевдомонад, слід зробити висновок про те, що мазі, які містять у своєму складі антисептик мірамістин, за бактеріологічними показниками швидкості санації є достатньо ефективними і мають істотні

переваги порівняно з маззю левомеколь на основі хлорамфеніколу. Водночас мазь іруксан, незважаючи на нижчу концентрацію у своєму складі антисептика мірамістину (2000 мкг/мл), не поступається за санаційною ефективністю мазі мірамістину, концентрація антисептика у якій становить 5000 мкг/мл.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Комбінована лікарська суміш на основі колагенази "Іруксан", а також інші досліджувані мазі показали виражений протимікробний ефект стосовно клінічних метицилінрезистентних штамів *S. aureus* та значно нижчу активність відносно клінічних штамів *P. aeruginosa*.

2. Показники середніх мінімальних бактеріостатичних та бактерицидних концентрацій, швидкості повного знезаражування інфікованих стафілококами і псевдомонадами тест-об'єктів *in vitro* демонструють ефективність мірамістину та іруксану. Хоча іруксан характеризується дещо зниженими, порівняно з маззю мірамістину, показниками швидкості знезаражування біологічної поверхні, однак це пояснюється у 2,5 рази мен-

шою концентрацією антисептика мірамістину в цьому препараті.

3. В умовах експериментального дослідження зі штучно контамінованими стійкими до антибіотиків штамми стафілококів і псевдомонад ран у щурів антисептик мірамістин за бактеріологічними показниками швидкості санації є достатньо ефективними і має істотні переваги порівняно з маззю левомеколь на основі хлорамфеніколу. Мазь іруксан, незважаючи на нижчу концентрацію в складі антисептика мірамістину (2000 мкг/мл), не поступається за санаційною ефективністю мазі мірамістину, концентрація антисептика у якій становить 5000 мкг/мл. Очевидно, що такий ефект реалізується завдяки ще одній діючій речовині іруксану - протеолітичному ферменту колагенази, який здійснює видалення некротичних елементів і сприяє механічному очищенню ранової поверхні, і відтак може компенсувати малу концентрацію антисептика у складі препарату.

Наведені дані є підставою до вивчення терапевтичної можливості застосування іруксану в загоєнні ран різного ґенезу, зокрема й гнійних ран.

Список посилань - References

- [1] Ahmed, R., Ray, M. K., Nayak, D., & Mohanta, Y. K. (2023). Microbial Enzymes in Biomedical Applications. In *Microbial Enzymes and Metabolites for Health and Well-Being*. (pp. 53-74). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003369295-5>
- [2] Andersen, B. M. (2018). *Prevention of Postoperative Wound Infections*. Prevention and Control of Infections in Hospitals, (Sep 25), 377-437. doi: 10.1007/978-3-319-99921-0_33
- [3] Augustine, H., Gillis, J., & Williams, J. (2015). Pseudomonas aeruginosa wound infections: a critical appraisal of topical antiseptics. *DMJ*, 42(1), 13-17. <https://doi.org/10.15273/dmj.Vol42No1.6434>
- [4] Colenci, R., & Abbade, L. P. F. (2018). Fundamental aspects of the local approach to cutaneous ulcers. *An Bras Dermatol.*, 93(6), 859-870. doi: 10.1590/abd1806-4841.20187812
- [5] Demidova-Rice, T. N., Hamblin, M. R., & Herman, I. M. (2012). Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Adv Skin Wound Care*, 25(7), 304-14. doi: 10.1097/01.ASW.0000416006.55218.d0
- [6] European Centre for Disease Prevention and Control. (2019). Healthcare-Associated Infections: Surgical Site Infections; Annual Epidemiological Report for 2017; European Centre for Disease Prevention and Control: Stockholm, Sweden. URL: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2017-SSI.pdf
- [7] Fanaei, P. R., Emaneini, M., Beigverdi, R., Banar, M., van Leeuwen, B. W., & Jabalameli, F. (2020). Combinatorial effects of antibiotics and enzymes against dual-species Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa biofilms in the wound-like medium. *PLoS One*, 15(6), e0235093. doi: 10.1371/journal.pone.0235093
- [8] Hrynyshyn, A., Simoes, M., & Borges, A. (2022). Biofilms in Surgical Site Infections: Recent Advances and Novel Prevention and Eradication Strategies. *Antibiotics* (Basel), 11(1), 69. doi: 10.3390/antibiotics11010069
- [9] McCallon, S. K., Weir, D., & Lantis, J. C. 2nd. (2015). Optimizing Wound Bed Preparation With Collagenase Enzymatic Debridement. *J Am Coll Clin Wound Spec.*, 6(1-2), 14-23. doi: 10.1016/j.jccw.2015.08.003
- [10] Niederstatter, I. M., Schiefer, J. L., & Fuchs, P. C. (2021). Surgical Strategies to Promote Cutaneous Healing. *Med Sci* (Basel), 9(2), 45. doi: 10.3390/medsci9020045
- [11] Patry, J., & Blanchette, V. (2017). Enzymatic debridement with collagenase in wounds and ulcers: a systematic review and meta-analysis. *International wound journal*, 14(6), 1055-1065. <https://doi.org/10.1111/iwj.12760>
- [12] Protsenko, O. S., Shapoval, O. V., Teslenko, G. O., & Rodionov, M. O. (2019). Методи оцінки перебігу ранового процесу [Methods of evaluating the course of the wound process]. *Actual problems of modern medicine*, (4), 3-12. DOI: 10.26565/2617-409X-2019-4-01
- [13] Sathe, N., Beech, P., Croft, L., Suphioglu, C., Kapat, A., & Athan, E. (2023). Pseudomonas aeruginosa: Infections and novel approaches to treatment "Knowing the enemy" the threat of Pseudomonas aeruginosa and exploring novel approaches to treatment. *Infect Med* (Beijing), 2(3), 178-194. doi: 10.1016/j.imj.2023.05.003
- [14] Sen, C. K. (2021). Human Wound and Its Burden: Updated 2020 Compendium of Estimates. *Adv Wound Care* (New Rochelle), 10(5), 281-292. doi: 10.1089/wound.2021.0026
- [15] Tottoli, E. M., Dorati, R., Genta, I., Chiesa, E., Pisani, S., & Conti, B. (2020). Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. *Pharmaceutics*, 12(8), 735. doi: 10.3390/pharmaceutics12080735

ROLE OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COLLAGENASE-BASED OINTMENT IN THE TREATMENT OF INFECTED WOUNDS IN EXPERIMENT

Rautskis V. P., Khimich S. D.

Annotation. Infection is the main cause of delay in the normal healing process of any type of wounds. Due to the negative impact of microorganisms on the wound healing process, antimicrobial activity is a necessary component of modern topical medication for

wound treatment. Aim - to study the antimicrobial effect of a medicinal ointment based on collagenase (Iruksan) on typical pathogens of wound infection and to compare it with other medications for the treatment of purulent-necrotic wounds. The antimicrobial properties of the studied agents were evaluated by diffusion method, the minimum bacteriostatic and bactericidal concentrations, the rate of disinfection of artificially contaminated test objects were determined. To reproduce a wound infection in experimental rats, a wound was modeled and contaminated with a pathogenic strain of *Staphylococcus aureus* in combination with *Pseudomonas aeruginosa*, which are typical pathogens of wound infection in surgical patients. After a day, the number of test microorganisms of both species in the contents of the wounds was approximately the same in experimental animals of all groups (6.6 ± 0.1 - 6.9 ± 0.1 lg CFU/ml). On the 3rd day from the start of treatment, a tendency to a decrease in the number of staphylococci and pseudomonads was observed in the groups of animals treated with the use of Miramistin and Iruksan ointments, in comparison with animals of the control group ($p > 0.05$). On the 7th day, the number of staphylococci and pseudomonads was lower in groups of animals treated with Miramistin and Iruksan - 3.5 ± 0.4 P. a., 4.8 ± 0.1 S. a. and 2.3 ± 0.64 P. a., 4.8 ± 0.2 S. a. ($p < 0.05$) than in the control group. Therefore, Iruksan ointment, despite the lower concentration in the composition of the Miramistin antiseptic ($2000 \mu\text{g/ml}$), has a pronounced antimicrobial activity due to the presence of a proteolytic enzyme - collagenase, which causes the lysis of necrotic tissues and mechanically cleans the wound surface from the studied pathogens.

Keywords: wound, infected wound, wound process, rats, MRSA, staphylococcus, *P. aeruginosa*, antimicrobial activity, collagenase, Iruksan.
