



Комплексная оценка эффективности раневых покрытий на основе хитозана в комбинации с различными антисептиками

©С.Е. Гуменюк¹, О.А. Качанова¹, Д.И. Ушмаров¹, А.С. Гуменюк¹, О.Ю. Шокель^{1*}, Д.Р. Исянова²,
Е.А. Шевченко¹, Е.В. Журавлева³, А.А. Веревкин³, К.И. Мелконян¹

¹Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

²Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

³Специализированная клиническая инфекционная больница, Краснодар, Россия

* О.Ю. Шокель, Кубанский государственный медицинский университет, 350016, Краснодар, ул. М. Седина, 4, solga2108@mail.ru

Поступила в редакцию 3 марта 2024 г. Исправлена 15 марта 2024 г. Принята к печати 20 марта 2024 г.

Резюме

Актуальность: Актуальной проблемой современной гнойной хирургии является увеличение числа штаммов микроорганизмов, обладающих антибиотикорезистентностью. Одной из стратегий решения этой проблемы является разработка новых раневых покрытий (РП) с инкорпорированными антисептиками, которые могут предотвратить или снизить риск инфицирования ран без использования антибиотиков.

Цель: Провести сравнительную оценку эффективности РП на основе хитозана с иммобилизованными антисептиками и их комбинациями в эксперименте *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы: Проведено многоэтапное рандомизированное контролируемое исследование *in vitro* и *in vivo*. Объектом исследования послужили образцы РП на основе хитозана с инкорпорированными антисептиками: полигексанидом, октенидина дигидрохлоридом, повидон-йодом и комбинацией полигексанида и октенидина в международных концентрациях и в разведении. Оценка противомикробной активности антисептиков *in vitro* проводилась микродиффузионным и диско-диффузионным методами. В качестве тест-культур использовали культуры *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Для исследований *in vivo* у лабораторных животных (крысы-самцы массой 300 ± 50 гр.) по собственной методике формировали экспериментальные гнойные раны мягких тканей с дальнейшим лечением путем применения исследуемых РП. Оценку динамики раневого процесса проводили путем анализа клинических и цитологических данных, а также с помощью прижизненной УЗ диагностики.

Результаты: В зависимости от пролонгации сроков поддержания эффективной концентрации в ране и минимального раздражающего влияния на ткани, установлен следующий рейтинг антисептических средств: полигексанид>октенидин>повидон-йод. Комбинация полигексанида и октенидина не продемонстрировала искомого эффекта синергизма, однако также оказывала положительное лечебное действие в ране, сопоставимое с действием отдельно взятых антисептиков. При комплексной оценке раневого процесса наилучший ранозаживляющий и антисептический эффекты продемонстрировали РП с иммобилизованным полигексанидом: достоверные признаки заживления раны наблюдались уже к 7-м сут. с дальнейшей положительной динамикой, что оказалось почти в 2 раза быстрее, чем при применении других опытных образцов.

Заключение: Хитозан является перспективным материалом при использовании в качестве химически инертной матрицы для программируемой доставки в раневую среду лекарственных препаратов различного, в том числе антимикробного типа действия. Исследуемые РП с иммобилизованными антисептиками не проявили выраженного цитотоксического действия и угнетающего влияния на процессы ремоделирования мягких тканей, и, напротив, существенно сократили сроки перехода раны в пролиферативную фазу.

Ключевые слова: лечение раны, гнойная рана, раневое покрытие, хитозан, полигексанид, октенидина дигидрохлорид, повидон-йод.

Цитировать: Гуменюк С.Е., Качанова О.А., Ушмаров Д.И. и др. Комплексная оценка эффективности раневых покрытий на основе хитозана в комбинации с различными антисептиками. *Инновационная медицина Кубани*. 2024;9(2):78–86. <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2024-9-2-78-86>



Comprehensive Assessment of the Efficacy of Chitosan-Based Wound Dressings in Combination With Various Antiseptics

©Sergey E. Gumenyuk¹, Olga A. Kachanova¹, Denis I. Ushmarov¹, Alexander S. Gumenyuk¹,
Olga Yu. Shokel^{1*}, Diana R. Isyanova², Elizaveta A. Shevchenko¹, Elena V. Zhuravleva³,
Aleksandr A. Verevkin¹, Karina I. Melkonian¹

¹ Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

² Moscow Regional Research Clinical Institute named after M.F. Vladimirov, Moscow, Russian Federation

³ Specialized Clinical Infectious Diseases Hospital, Krasnodar, Russian Federation

* Olga Yu. Shokel, Kuban State Medical University, ulitsa M. Sedina 4, Krasnodar, 350016, Russian Federation, solga2108@mail.ru

Received: March 3, 2024. Received in revised form: March 15, 2024. Accepted: March 20, 2024.

Abstract

Background: A pressing issue in modern purulent surgery is the growing number of microbial strains resistant to antibiotics. One of the strategies to address this issue is to develop novel wound dressings (WD) with incorporation of antiseptics that can prevent or reduce infection without conventional antibiotics.

Objective: To compare the efficacy of chitosan-based WD with immobilized antiseptics and their combinations in in vitro and in vivo experiments.

Materials and methods: We conducted a multistage randomized controlled in vitro and in vivo study investigating samples of chitosan-based WD with incorporated antiseptics (polyhexanide, octenidine dihydrochloride, povidone-iodine, and a combination of polyhexanide and octenidine) in international concentrations and diluted. The antimicrobial activity of antiseptics was evaluated in vitro by broth microdilution and disk diffusion methods. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were used as reference cultures. For in vivo experiments, we formed experimental purulent wounds of soft tissues in laboratory animals (male rats weighing 300±50 g) according to our own method and treated the wounds with the investigated WD. The dynamics of the wound process was assessed by clinical and cytological data, as well as intravital ultrasonography findings.

Results: Depending on the prolongation of time to maintain an effective concentration in the wound and minimal irritating effect on the tissue, we ranked antiseptic agents as follows: polyhexanide > octenidine > povidone-iodine. The combination of polyhexanide and octenidine did not demonstrate the expected synergistic effect; however, it had a positive therapeutic effect on the wound comparable to that of other antiseptics used alone. The comprehensive assessment of the wound process showed that WD with immobilized polyhexanide demonstrated the best wound healing and antiseptic effect. Reliable signs of wound healing with further positive dynamics were observed by day 7. It was almost 2 times faster compared with other experimental samples.

Conclusions: Chitosan is a promising material to be used as a chemically inert matrix for programmed delivery of various drugs, including antimicrobial drugs, into the wound. The studied WD with immobilized antiseptics did not demonstrate a pronounced cytotoxic and depressing effect on processes of soft tissue remodeling and, on the contrary, significantly reduced the time of wound transition to the proliferation phase.

Keywords: wound treatment, purulent wound, wound dressing, chitosan, polyhexanide, octenidine dihydrochloride, povidone-iodine.

Cite this article as: Gumenyuk SE, Kachanova OA, Ushmarov DI, et al. Comprehensive assessment of the efficacy of chitosan-based wound dressings in combination with various antiseptics. *Innovative Medicine of Kuban*. 2024;9(2):78–86. <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2024-9-2-78-86>

Актуальность

Прогрессивное увеличение бытового, производственного и дорожно-транспортного травматизма, локальные военные конфликты способствуют сохранению значительного числа пациентов с ранами и гнойно-септической патологией мягких тканей среди обратившихся за хирургической помощью. Вместе с тем, происходит увеличение числа штаммов микроорганизмов, устойчивых к антибиотикам, что требует разработки новых раневых покрытий (РП) с инкорпорированными антисептиками, способными предотвратить или нивелировать уже протекающий инфекционный процесс без использования антибиотиков [1, 2]. Таким образом, проблема эффективной терапии ран и раневой инфекции в современной медицине не теряет своей актуальности.

Разработка новых композиций РП позволит определить оптимальные сочетания компонентов с реализацией персонифицированного подхода в лечении инфицированных ран с учетом особенностей каждого

случая. Тем самым, применение таких РП может снизить длительность стационарного лечения, что сократит финансовые расходы и ускорит процесс реабилитации пациентов [3].

Цель исследования

Провести сравнительную оценку эффективности РП на основе хитозана с иммобилизованными антисептиками и их комбинациями в эксперименте in vitro и in vivo.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были выбраны РП на основе хитозана в роли полимерного носителя и антисептики, применяемые в современной медицинской практике: полигексанид в международной рабочей концентрации 0,1% (1000 мкг/мл) (Пронтосан, Б. Браун, Швейцария) – (РН), октенидина дигидрохлорид в концентрации 1,6% (1600 мкг/мл) (октенисепт, Шульке и Майер ГмбХ, Германия) – (ОСТ),

повидон-йод в концентрации 0,1% (1000 мкг/мл) (ЗАО «Фармацевтический завод ЭГИС», Венгрия) – (PVP-I), а также комбинация полигексанида с октенидином в международных концентрациях и в разведениях в соотношении 1:1 (РН/ОСТ).

Образец РП, использованный в качестве матрицы-носителя и условно обозначенный как «Chitosan-soft» (Ch-S), обладал следующими параметрами: степень пористости 98%, толщина стенок 600–1200 нм, размер пор 70–200 мкм, деформация при сжатии 50,14%, модуль текучести – 0,369 МПа, условный предел текучести – 24,15 кПа. Эффективность данной лекарственной формы была экспериментально подтверждена в ходе предшествующих доклинических испытаний по разработке биополимерных РП на основе хитозана [4, 5]. Выбранные для исследования антисептики отличались механизмом противомикробного действия и избирательностью влияния на различные компоненты бактериальной клетки. Так, повидон-йод был способен ковалентно связываться с аминокислотами белков микробных клеток, что приводило к нарушению функционирования энергетических систем клетки, полигексанид нарушал целостность цитоплазматической мембраны бактериальной клетки, октенидин повышал проницаемость бактериальных мембран, связываясь с глицерофосфатами [6–8]. Основная задача, поставленная в данном исследовании, заключалась в изучении клинической эффективности разработанного принципиально нового РП на основе хитозана, обладающего способностью к биодegradации в сроки до 7 сут. и обеспечению пролонгированного противомикробного действия в ране за счет иммобилизованных антисептиков. Также, изучить возможность получения эффекта синергизма при одновременном использовании антисептиков с различным механизмом действия, не вступающих друг с другом в химическое взаимодействие на примере комбинации полигексанида и октенидина. Стоит отметить, что за счет большого числа дезацетилированных групп полимерные материалы на основе хитозана имеют высокую химическую совместимость с вводимыми в их структуру веществами без изменения наноконфигурации молекул полимера [9]. Исследование противомикробной активности проводилось в 2 этапа: *in vitro* и *in vivo*.

Изучена противомикробная активность антисептиков с использованием методов: микроразведений в бульоне (микродиффузионного) и диско-диффузионного. В качестве тест-культур в микробиологических испытаниях использовали культуры *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 6538P и *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922, выращенные на агаре в течение 18–20 ч при 36 °С, из которых готовили взвесь на забуференном физиологическом растворе с концентрацией 10^5 в 1 мл. Концентрацию микробной взвеси определяли при помощи денситометра Vitek (Китай).

При выполнении микродиффузионного метода каждую из 96 лунок титровальной пластины добавляли 100 мкл суспензии тестового организма и 100 мкл антисептического раствора нужного разведения. Через 24 и 48 ч проводилась оценка мутности в качестве индикатора бактериального роста. Антисептики разбавлялись в воде стандартизированной жесткости до достижения конечных концентраций. Для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК) готовили растворы препаратов в концентрациях от 0,25 до 4096 мг/л. Для определения МБК образцы из лунок после 24 ч с результатами в пределах порога мутности переносили на кровяной агар и оценивали рост колоний через 24 ч.

При проведении диско-диффузионного метода (ДДМ) в качестве матрицы для иммобилизации антисептиков применяли образцы Ch-S. Непосредственно перед испытаниями на Ch-S-диски (диаметром 8 мм и высотой 1 мм) и стандартные диски из фильтровальной бумаги в асептических условиях при помощи автоматической пипетки наносили по 0,1 мл растворов антисептиков: РН, ОСТ, PVP-I в международной рабочей концентрации, а также в разведении 1:2, 1:10, 1:100.

Оценку антимикробного действия хитозана осуществляли по зоне задержки роста культур *S. aureus* и *E. coli* на среде АГВ (Производитель: АО «НПО «Микро-ген» Минздрава РФ), которую предварительно засеивали газонем взвесями микроорганизмов не позднее 15 мин после их приготовления, а затем инкубировали при 37 °С в течение 18–20 ч. Зоны задержки роста при диффузии исследуемых антисептиков из носителей в АГВ измеряли с помощью линейки-лекала (HiMedia Laboratories Pvt. Limited).

Второй этап представлял собой рандомизированное контролируемое экспериментальное исследование *in vivo* с участием 360 особей линейных крыс-самцов породы Вистар массой 300 ± 50 г. Все экспериментальные процедуры с животными проводились с соблюдением правил гуманного обращения с животными: «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (1986 г.), ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (утвержден Приказом Федерального агентства по тех. регулированию и метрологии № 1700-ст от 20 ноября 2014 г.) и иными нормативно-правовыми актами. Исследование одобрено ЛЭК ФГБОУ ВО КубГМУ МЗ РФ № 63 от 21 мая 2018 г.

Для воспроизведения стандартизированной модели гнойно-септической раны мягких тканей использовали собственную методику (Патент РФ № 2703709). Сроки формирования раневой полости составляли 6–7 дней, после чего животные были рандомизированы и разделены на 6 групп ($n = 60$): 5 опытных

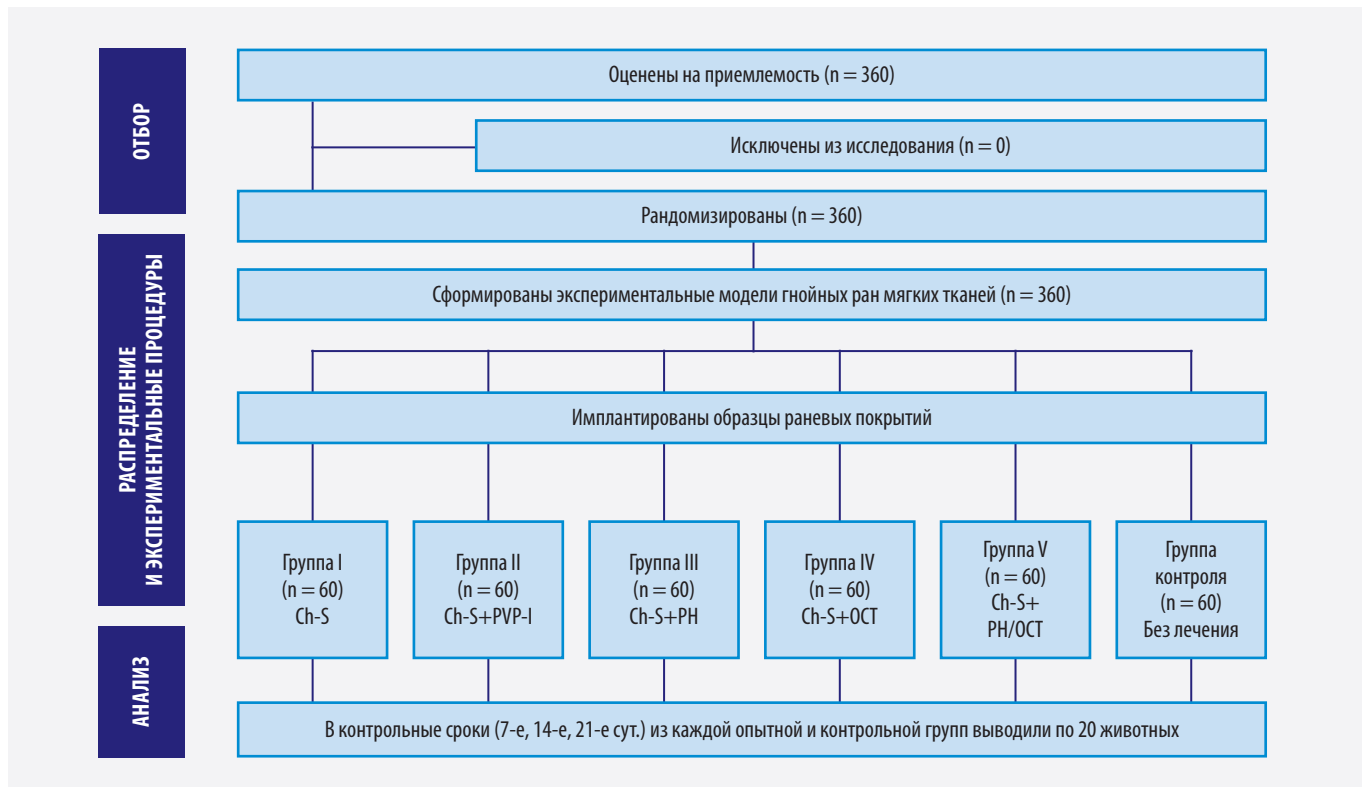


Рисунок 1. Схема описания проведения эксперимента *in vivo*

Прим.: Ch-S – Chitosan-Soft, PVP-I – повидон-йод, PH – полигексанид, OCT – октенидина дигидрохлорид, PH/OCT – комбинация полигексанида и октенидина дигидрохлорида

Figure 1. Schematic representation of the *in vivo* experiment

Note: Ch-S, Chitosan-Soft; PVP-I, povidone-iodine; PH, polyhexanide; OCT, octenidine dihydrochloride; PH/OCT, combination of polyhexanide and octenidine dihydrochloride

и 1 контрольную для дальнейшей имплантации исследуемых РП. Введение антисептиков в структуру РП осуществлялось на этапе химического синтеза путем их сочетания в установленных в экспериментах *in vitro* оптимальных эффективных концентрациях. Дизайн экспериментального исследования *in vivo* представлен на рисунке 1.

Анализ эффективности имплантированных образцов РП проводили путем клинической оценки динамики раневого процесса, а также цитологического анализа раны. Для этого методом пункционной биопсии осуществлялся забор материала с последующей фиксацией и окрашиванием гематоксилином и эозином. Изучение микропрепаратов проводили на микроскопе Olympus CX41 (Япония).

Для неинвазивной оценки заживления ран применяли методику УЗИ на ультразвуковом портативном сканере Mindray M7 Premium высокоплотным линейным датчиком в режиме «серой» шкалы, энергетического доплера (ЭД) и цветового доплеровского картирования (ЦДК) кровотока интраоперационно и на 7-е, 14-е, 21-е сут. после имплантации образцов. Сканирование проводилось в режиме реального времени.

Статистический анализ данных выполняли на персональном компьютере в операционной системе Windows

10 с помощью программ STATISTICA 6.1 (StatSoft, Inc., США) и Excel (Microsoft Office 2010). Статистическую значимость полученных данных определяли с помощью расчета критериев Шапиро-Уилка, U-критерия Манна-Уитни, критерия Крускала-Уоллеса. Критерием уровня статистической значимости рассматривалось значение, равное $p < 0,05$. В качестве меры центральной тенденции использовали расчет среднего арифметического (m), в качестве меры вариативности использовали стандартную ошибку среднего.

Результаты

Исследование антибактериальной активности *in vitro*

С использованием метода микроразведений установлены МИК спустя 24 и 48 ч испытаний (МИК₂₄ и МИК₄₈ соответственно) и МБК на тест-штаммах микроорганизмов в мг/л. Результаты эксперимента отражены на рисунках 2А, В.

Из полученных данных следует, что OCT и PH продемонстрировали наиболее высокую активность в микродиффузионном тесте даже при низких концентрациях: в отношении *E. coli* были установлены сравнимые концентрации МИК₂₄ и МБК – в пределах 8 мг/л, *S. aureus* оказался чувствительным к PH

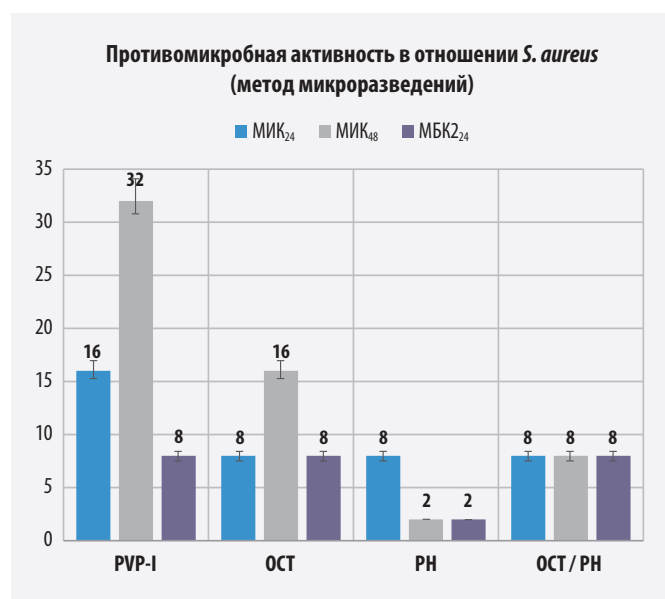


Рисунок 2А. Результаты антимикробной активности антисептиков в отношении *S. aureus* (в мг/л)

Figure 2A. Antimicrobial activity of the antiseptics against *S. aureus* (mg/L)

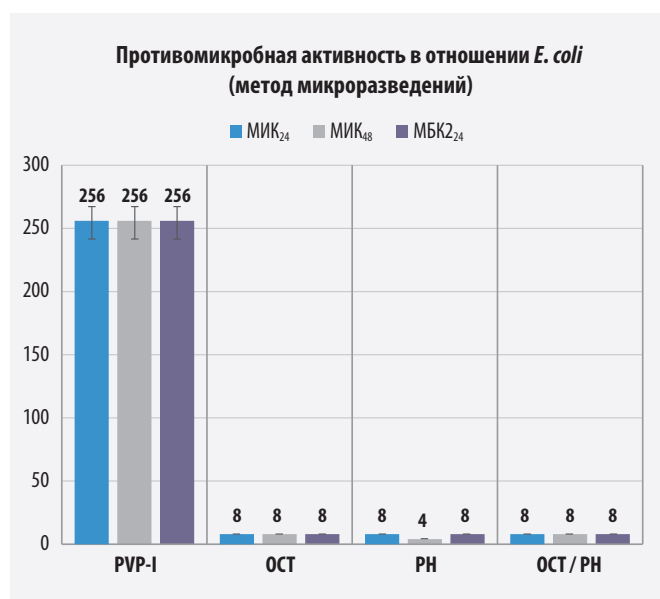


Рисунок 2В. Результаты антимикробной активности антисептиков в отношении *E. coli* (в мг/л)

Figure 2B. Antimicrobial activity of the antiseptics against *E. coli* (mg/L)

Прим.: испытуемые группы различались по степени антибактериальной активности – критерий значимости отличий Крускала-Уоллеса между группами соответствовал $p \leq 0,05$. МИК – минимальная ингибирующая концентрация, МБК – минимальная бактерицидная концентрация, PVP-I – повидон-йод, PH – полигексанид, OCT – октенидина дигидрохлорид, PH/OCT – комбинация полигексанида и октенидина дигидрохлорида

Note: the test groups differed in the degree of antibacterial activity; the Kruskal-Wallis test corresponded to $P \leq 0.05$. МИК, minimum inhibitory concentration; МБК, minimum bactericidal concentration; PVP-I, povidone-iodine; PH, polyhexanide; OCT, octenidine dihydrochloride; PH/OCT, combination of polyhexanide and octenidine dihydrochloride

при более низкой концентрации – 2 мг/л. Для PVP-I максимальные значения МИК были значительно выше, однако при тестировании *S. aureus* МБК определялась на уровне 8 мг/л, что аналогично результатам OCT. При сравнении МИК₂₄ и МИК₄₈ внутри каждой группы при тестировании чувствительности *S. aureus*: МИК₄₈ > МИК₂₄ для OCT и PVP-I, МИК₄₈ < МИК₂₄ для PH, в группах с *E. coli* МИК₄₈ = МИК₂₄.

Комбинация PH/OCT в пропорции 1:1 продемонстрировала нейтральные результаты, сопоставимые с активностью каждого компонента по отдельности.

Результаты изучения спектра противомикробной активности исследуемых РП с помощью ДДМ в отношении тест-штаммов микроорганизмов систематизировали на категории по зонам задержки роста: высокая активность (+++) – более 25 мм; умеренная активность (++) – 16–25 мм; малая активность (+) – 10–15 мм; нет активности (0) – менее 10 мм или сплошной рост культуры. Данные приведены в таблице: для каждой серии выполнены наблюдения в количестве 5 ($n = 5$) и представлено среднее арифметическое (m).

Все антисептики показали высокую противомикробную активность в исходной концентрации. При разведении $\frac{1}{2}$ для колоний *E. coli* распределение по чувствительности было следующим: PH > PVP-I =

OCT для колоний *S. aureus*: PH = OCT > PVP-I. В разведении 1/10 колонии *S. aureus* оказались мало чувствительными ко всем антисептикам, колонии *E. coli* были минимально чувствительны к действию PH и OCT и практически нечувствительны к PVP-I. В разведении 1/100 не обнаружена антибактериальная активность. Дополнительно было отмечено: антисептические препараты свободно диффундировали из образцов хитозана в агаровую среду – не выявлено различий с группой, в которой применяли стандартные диски фильтровальной бумаги.

Клиническая оценка ранозаживляющей активности *in vivo*

Наибольшую эффективность проявили образцы Ch-S+PH, где уже на 7-е сут. были отмечены достоверные признаки начальных процессов эпителизации раны. В эти сроки РП трансформировалось в гидрогель. На 14-е сут. воспалительные изменения не определялись, наблюдалась высокая степень эпителизации. Образцы Ch-S+OCT, Ch-S+PVP-I и Ch-S+OCT/PH продемонстрировали сходную положительную динамику репарации, однако сроки перехода раны в активную пролиферативную фазу были несколько пролонгированы (до 14 сут.). Использование комбинации Ch-S+OCT/PH

Таблица
Результаты антимикробной активности по зонам задержки роста в мм (ДДМ)
Table
Antimicrobial activity by growth retardation zones in mm (disk diffusion method)

Исследуемые антисептики		Зоны задержки роста, n = 5, m в мм			
		<i>S. aureus</i> ATCC 6538P		<i>E. coli</i> ATCC 25922	
		Диск – хитозан	Диск – фильтровальная бумага	Диск – хитозан	Диск – фильтровальная бумага
Повидон-йод (PVP-I)	исходная концентрация	+++ (m = 28)	+++ (m = 29)	+++ (m = 27)	+++ (m = 27)
	разведение 1/2	++ (m = 21)	++ (m = 20)	++ (m = 20)	++ (m = 19)
	разведение 1/10	+ (m = 10)	+ (m = 11)	0 (m = 9)	0 (m = 8)
	разведение 1/100	0	0	0	0
Октенидин (ОСТ)	исходная концентрация	+++ (m = 29)	+++ (m = 28)	+++ (m = 30)	+++ (m = 30)
	разведение 1/2	+++ (m=28)	+++ (m=26)	++ (m=23)	++ (m=24)
	разведение 1/10	+ (m = 12)	+ (m = 13)	+ (m = 10)	+ (m = 10)
	разведение 1/100	0	0	0	0
Полигексанид (PH)	исходная концентрация	+++ (m = 31)	+++ (m = 32)	+++ (m = 29)	+++ (m = 30)
	разведение 1/2	+++ (m = 30)	+++ (m = 30)	+++ (m = 26)	+++ (m = 27)
	разведение 1/10	+ (m = 15)	+ (m = 15)	+ (m = 11)	+ (m = 12)
	разведение 1/100	0	0	0	0

позволило добиться наиболее полного нивелирования воспалительной реакции и, соответственно, более ранней эпителизации. Во всех опытных группах клиническое заживление раны с завершившейся организацией рубца наступало к 21-м сут.

В контрольной группе животных отмечалось стойкое прогрессирование воспалительной реакции с переходом в распространенную флегмону, при этом к концу периода наблюдения (на 21-е сут.) в живых оставалось 7 животных (летальность составила 88,3%).

Ультразвуковая оценка ранозаживляющей активности *in vivo*

Интраоперационная УЗ-визуализация: отек подкожной клетчатки в виде утолщения и неоднородности эхоструктуры; полость анэхогенной структуры размерами 20×30×20 мм с гиперэхогенной капсулой; инфильтрат нечеткой структуры размерами от 30 до 34 мм и единичные локусы кровотока (в режимах ЦДК и ЭД) по периферии капсулы.

УЗ-визуализация на 7-е сут.: умеренная отечность подкожной клетчатки с полнокровием в области линии послеоперационного шва, раневая полость со следовым объемом жидкости регрессировала до 15×23×13 мм, ее капсула гиперэхогенна с инфильтратом по периферии до 25–28 мм. Биodeградация раневого покрытия в тканях до 14% от начального объема (рис. 3).

УЗ-визуализация на 14-е сут.: после имплантации Ch-S, Ch-S+PVP-I, Ch-S+ОСТ и комбинации Ch-S+PH/ОСТ размеры раневой полости регрессировали до 9×16×11 мм, размеры инфильтрата – до 12 мм.

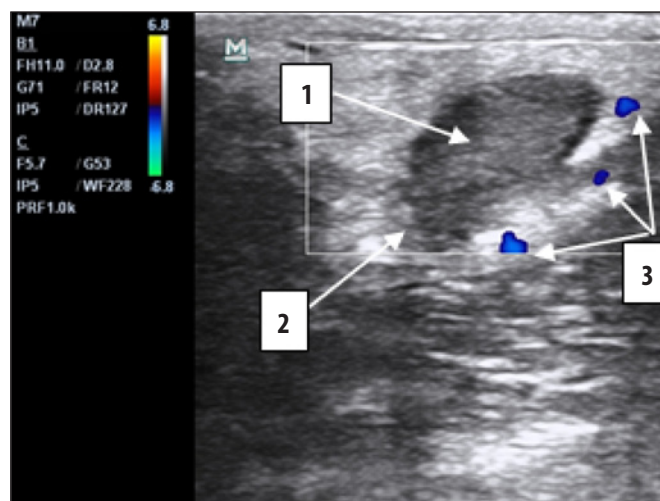


Рисунок 3. УЗ-визуализация раневой полости на 7-е сут. после имплантации образцов Ch-S+PH. 1 – остаточный объем раны, полная биodeградация образца; 2 – пиогенная капсула, 3 – единичные локусы кровотока

Figure 3. Ultrasonography: wound cavity on day 7 after Ch-S+PH samples implantation. 1, residual wound volume, complete biodegradation of the sample; 2, pyogenic capsule; 3, single loci of blood flow

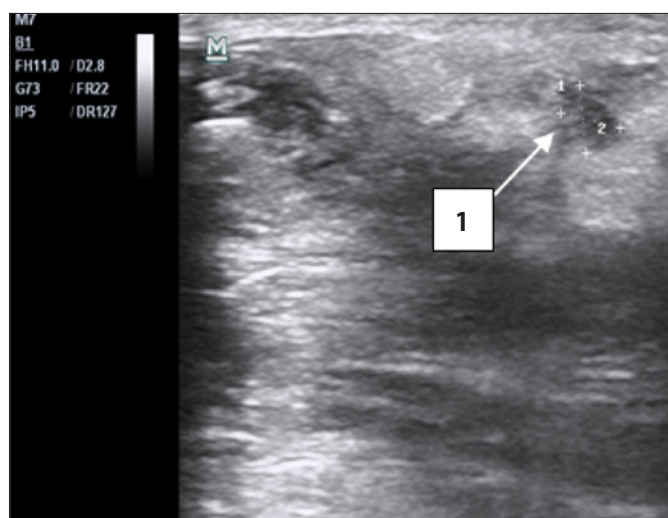


Рисунок 4. УЗ-визуализация раневой зоны на 21-е сут. после имплантации образцов Ch-S+PH. 1 – объем минимальной остаточной раневой полости

Figure 4. Ultrasonography: area of the wound on day 21 after Ch-S+PH samples implantation. 1, volume of minimal residual wound cavity

Раневая полость гетерогенной структуры, свободной жидкости не наблюдалось. При имплантации Ch-S+PH размеры раневой полости регрессировали до $1,3 \times 4 \times 1$ мм, инфильтрат не определялся. Гиперэхогенность раневой полости обусловлена ее заполнением грануляционной тканью.

УЗ-визуализация на 21-е сут.: в зоне имплантации Ch-S+PH раневая полость и инфильтрат не визуализировались, в раневой зоне единичные участки гиперэхогенной структуры (рис. 4). При имплантации образцов Ch-S+PVP-I и Ch-S+OCT определялась минимальная остаточная полость размерами $0,2 \times 1,1 \times 0,3$ мм, инфильтрат не определялся. В области введения Ch-S и Ch-S+PH/OCT визуализировались диффузные локусы гиперэхогенной структуры в межлопаточной области при мозаичной умеренной инфильтрации мягких тканей.

УЗ-визуализация в контрольной группе (с нативным заживлением раны): была зафиксирована УЗ-картина, характерная для прогрессирующего разлитого гнойно-воспалительного процесса. В мышечном слое на 7-е сут. выявлен инфильтрат неоднородной структуры овально-округлой формы с нечеткими контурами размером от 45 до 51 мм в диаметре с прогрессированием до 75–82 мм к 14-м сут. Мышечные волокна резко гипозоногенны, окружающие мягкие ткани полнокровны.

Цитологическая оценка ранозаживляющей и антимикробной активности *in vivo*

На 1-е сут.: цитологическая картина во всех опытных и контрольной группах была идентична и соответствовала фазе активного гнойного воспаления с выраженной нейтрофильной инфильтрацией.

На 7-е сут.: в группах с имплантированными Ch-S, Ch-S+OCT, Ch-S+PVP-I, Ch-S+PH/OCT уменьшилось процентное содержание нейтрофильных гранулоцитов (61 ± 3 в п/зр), усилилась миграция в очаг воспаления фибробластов (10 ± 2 в п/зр) и макрофагов (10 ± 5 в п/зр). В группе животных с Ch-S+PH – выраженная миграция фибробластов (25 ± 5 в п/зр) свидетельствовала о переходе раны в стадию пролиферации.

На 14-е сут.: во всех опытных группах преобладала макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация с усиленной миграцией фибробластов (41 ± 7 в п/зр), что свидетельствовало о нивелировании воспаления и активном течении пролиферативных процессов. Стоит отметить, что в группе с имплантированными Ch-S+PH в цитогамме обнаруживались неизмененные эритроциты, что свидетельствовало о реваскуляризации раневой зоны.

На 21-е сут.: во всех опытных группах наблюдалась картина, характерная для завершающейся фазы пролиферации с преобладанием фибробластов.

Обсуждение

Исследование антимикробной активности *in vitro*

По результатам исследования PH оказывал наиболее сильное антибактериальное действие по сравнению с другими антисептиками в микродилуционном тесте и ДДМ. Кроме того, его активность увеличивалась с течением времени ($МИК_{48} < МИК_{24}$). В отличие от этого, для OCT и PVP-I спустя 48 ч требовались более высокие эффективные концентрации, что свидетельствовало о постепенном снижении их активности. PVP-I был менее активен в микродилуционном тесте, однако результаты при проведении ДДМ были сопоставимы с OCT (в исходной концентрации и при разведении 1/2). Такие расхождения могут быть трактованы особенностями методик: микродилуционный тест проводился в питательной среде с более высокой бионагрузкой по сравнению с ДДМ. Антимикробная активность PVP-I наступала быстро, но заметно снижалась в присутствии органического субстрата (например, крови), что согласуется с данными литературы [4]. Комбинация PH/OCT не продемонстрировала искомого эффекта синергизма.

Все фармакологические препараты были способны пролонгированно и дозированно высвобождаться из Ch-S и диффундировать из них в агар, создавая необходимый градиент концентрации.

Исследование ранозаживляющей и антимикробной активности *in vivo*

При использовании Ch-S+PH по сравнению с другими опытными образцами снижение активности местной воспалительной реакции было достигнуто практически в 1,5 раза быстрее. РП Ch-S+PVP-I

и Ch-S+OCT также оказались эффективными, но стоит отметить, что их эффект был пролонгированным: этап перехода раны в устойчивую пролиферативную фазу был несколько отсрочен и регистрировался позднее 14-х сут. Подобный эффект может быть связан с длительным сохранением субклинически протекающего воспалительного процесса вследствие более кратковременной антимикробной активности повидон-йода и октенидина.

Комбинация антисептиков Ch-S+PH/OCT искомого ускорения подавления воспалительной реакции комбинация не продемонстрировала, однако общеклинический ранозаживляющий эффект по срокам и выраженности коррелировал с описанным выше эффектом отдельно взятых антисептиков.

Выводы

Хитозан является перспективным материалом для разработки РП с программируемыми свойствами. Для клинических состояний, при которых требуется пролонгация эффективной концентрации с минимальным раздражающим влиянием на ткани, был установлен следующий рейтинг антисептических средств: полигексанид>октенидин>повидон-йод. В комбинации полигексанида и октенидина не установлено достоверных признаков потенцирования их антисептического эффекта. Однако в эксперименте подтверждено их высокое ранозаживляющее действие, присущее каждому из препаратов по отдельности. Исследуемые РП с иммобилизованными антисептиками не проявили выраженного цитотоксического действия и негативно влияния на процессы репаративного гистогенеза.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования: С.Е. Гуменюк, О.А. Качанова, Д.И. Ушмаров
Написание статьи: все авторы
Проведение статистического анализа: О.Ю. Шокель, Д.Р. Исянова, Е.А. Шевченко
Исправление статьи: С.Е. Гуменюк, О.А. Качанова, Д.И. Ушмаров, О.Ю. Шокель, Д.Р. Исянова
Утверждение окончательной версии: С.Е. Гуменюк, О.А. Качанова, Д.И. Ушмаров

Author contributions

Concept and design: S.E. Gumenyuk, Kachanova, Ushmarov
Manuscript drafting: All authors
Statistical analysis: Shokel, Isyanova, Shevchenko
Manuscript revising: S.E. Gumenyuk, Kachanova, Ushmarov, Shokel, Isyanova
Final approval of the version to be published: S.E. Gumenyuk, Kachanova, Ushmarov

Литература/References

1. Kramer A, Dissemond J, Kim S, et al. Consensus on wound antiseptics: update 2018. *Skin Pharmacol Physiol*. 2018;31(1):28–58. PMID: 29262416. <https://doi.org/10.1159/000481545>

2. Sandoz H. An overview of the prevention and management of wound infection. *Nurs Stand*. 2022;37(10):75–82. PMID: 36039670. <https://doi.org/10.7748/ns.2022.e11889>

3. Nuutila K, Eriksson E. Moist wound healing with commonly available dressings. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2021;10(12):685–698. PMID: 32870777. PMID: PMC8568799. <https://doi.org/10.1089/wound.2020.1232>

4. Ushmarov D, Gumenyuk S, Gumenyuk A, et al. Preclinical trials for advanced chitosan-based coatings in treating purulent wounds. *Archiv EuroMedica*. 2021;11(2):63–71. <https://doi.org/10.35630/2199-885x/2021/11/2/16>

5. Ушмаров Д.И., Гуменюк С.Е., Гуменюк А.С. и др. Сравнительная оценка многофункциональных раневых покрытий на основе хитозана: многоэтапное рандомизированное контролируемое экспериментальное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2021;28(3):78–96. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-3-78-96>

Ushmarov DI, Gumenyuk SE, Gumenyuk AS, et al. Comparative evaluation of chitosan-based multifunctional wound dressings: a multistage randomised controlled experimental trial. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2021;28(3):78–96. (In Russ.). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-3-78-96>

6. Lepelletier D, Maillard JY, Pozzetto B, Simon A. Povidone iodine: properties, mechanisms of action, and role in infection control and *Staphylococcus aureus* decolonization. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(9):e00682–20. PMID: 32571829. PMID: PMC7449185. <https://doi.org/10.12968/jowc.2023.32.1.5>

7. Rippon MG, Rogers AA, Ousey K. Polyhexamethylene biguanide and its antimicrobial role in wound healing: a narrative review. *J Wound Care*. 2023;32(1):5–20. PMID: 36630111. <https://doi.org/10.12968/jowc.2023.32.1.5>

8. Huang J, Fan Q, Guo M, et al. Octenidine dihydrochloride treatment of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm-infected mouse wound. *J Wound Care*. 2021;30(2):106–114. PMID: 33573482. <https://doi.org/10.12968/jowc.2021.30.2.106>

9. Абилова Г.К., Махаева Д.Н., Ирмухаметова Г.С., Хutoryanskiy В.В. Гидрогели на основе хитозана и их применение в медицине. *Вестник Казахского национального университета. Серия химическая*. 2020;97(2):16–28. <https://doi.org/10.15328/cb1100>

Abilova GK, Makhayeva DN, Irmukhametova GS, Khutoryanskiy VV. Chitosan based hydrogels and their use in medicine. *Chemical Bulletin of Kazakh National University*. 2020;97(2):16–28. (In Russ.). <https://doi.org/10.15328/cb1100>

Сведения об авторах

Гуменюк Сергей Евгеньевич, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-4197-2207>

Качанова Ольга Анатольевна, к. б. н., доцент кафедры микробиологии, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-5097-7907>

Ушмаров Денис Игоревич, ассистент кафедры хирургических болезней, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-3665-3906>

Гуменюк Александр Сергеевич, ассистент кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-2294-0808>

Шокель Ольга Юрьевна, студентка 6-го курса педиатрического факультета, Кубанский государственный медицинский

университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0003-4793-783X>

Исянова Диана Ринатовна, ординатор кафедры лучевой диагностики, Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (Москва, Россия). <https://orcid.org/0009-0005-6321-3825>

Шевченко Елизавета Александровна, аспирант кафедры хирургических болезней, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0009-0005-1549-3631>

Журавлева Елена Владимировна, заведующая бактериологической лабораторией, Специализированная клиническая инфекционная больница (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-0357-6131>

Веревкин Александр Александрович, к. м. н., заведующий кафедрой гистологии с эмбриологией, доцент кафедры патологической анатомии, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-4159-2618>

Мелконян Карина Игоревна, к. м. н., доцент, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0003-2451-6813>

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/71.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Author credentials

Sergey E. Gumenyuk, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Surgical Diseases, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-4197-2207>

Olga A. Kachanova, Cand. Sci. (Bio.), Associate Professor at the Microbiology Department, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-5097-7907>

Denis I. Ushmarov, Assistant Professor at the Department of Surgical Diseases, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-3665-3906>

Alexander S. Gumenyuk, Assistant Professor at the Department of Surgical Dentistry and Oral and Maxillofacial Surgery, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-2294-0808>

Olga Yu. Shokel, 6th Year Student, Faculty of Pediatrics, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0003-4793-783X>

Diana R. Isyanova, Resident, Department of Diagnostic Radiology, Moscow Regional Research Clinical Institute named after M.F. Vladimirsky (Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0009-0005-6321-3825>

Elizaveta A. Shevchenko, Postgraduate Student, Department of Surgical Diseases, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0009-0005-1549-3631>

Elena V. Zhuravleva, Head of the Laboratory of Bacteriology, Specialized Clinical Infectious Diseases Hospital (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-0357-6131>

Aleksandr A. Verevkin, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Histology and Embryology, Associate Professor at the Department of Anatomic Pathology, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-4159-2618>

Karina I. Melkonian, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Central Research Laboratory, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0003-2451-6813>

Funding:

The study was funded by the Kuban Science Foundation under scientific project No. МФИ-20.1/71.

Conflict of interest: none declared.