

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

Миронов Петро Федорович

УДК 616-002.3-089:615.837-085.26:546.57-022.532(043.5)

**ДИСЕРТАЦІЯ**

Ефективність лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла  
та низькочастотним ультразвуком (експериментальне дослідження)

222 – Медицина

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ П. Ф. Миронов

Наукові керівники: Бугайов Володимир Іванович, к.мед.н., доцент

Голубнича Вікторія Миколаївна, к.мед.н., доцент

Суми – 2021

## АНОТАЦІЯ

*Миронов П. Ф.* Ефективність лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком (експериментальне дослідження) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – «Медицина». – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2021.

Сумський державний університет, Суми, 2021.

Дисертація присвячена дослідженню ефективності поєданого застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні гнійної хірургічної інфекції.

Хірургічна інфекція шкіри та м'яких тканин в наш час займає одне з перших місць в структурі хірургічної захворюваності і складає 30-45 %. Незважаючи на дотримання принципів асептики і антисептики, розвиток малоінвазивних технологій, широке застосування антибактеріальних препаратів, кількість хворих з гнійними рановими процесами не має тенденції до зменшення, а частота хірургічної інфекції залишається стабільно високою і займає третє місце у структурі всіх внутрішньо-лікарняних інфекцій.

Викликає занепокоєння велика кількість післяопераційних гнійних ускладнень, яка після умовно «чистих» операцій становить 3-15 %, та від 5 до 30 % – після операцій з гострою хірургічною патологією. Летальність при таких захворюваннях як некротичний целюліт і фасціїт сягає 50 %, а при септичних станах може досягати 60 %. Останнім часом ситуація ускладнилася зростанням числа полірезистентних патогенних мікроорганізмів, стійких не лише до антибіотиків, але і до антисептиків.

Вивчення біологічних і фізичних властивостей низькочастотного ультразвуку призвело до його широкого використання в хірургії.

Ультразвукова хірургічна обробка гнійних ран створила гарну доказову базу протягом останніх 50-ти років і може стати методом вибору завдяки малому травматизму, скороченню термінів лікування, відсутністю побічних ефектів та є економічно обґрунтованою. Низькочастотний ультразвук суттєво прискорює терміни очищення рани від фібрину та некротичних тканин, підсилює дію багатьох антибіотиків і антисептиків, сприяє депонуванню медикаментів у поверхневих шарах ран, стимулює внутрішньоклітинний біосинтез і регенеративні процеси, покращує мікроциркуляцію, підвищує фагоцитарну активність лейкоцитів.

За останні два десятиліття значно зросло застосування наноматеріалів для загоєння ран та профілактики інфекцій. Особливу увагу привертають наночастинки срібла, які, за рахунок збільшення хімічного потенціалу, великої питомої поверхні, високої проникаючої здатності і адсорбційної активності, володіють широким антибактеріальним спектром дії як проти грамнегативної, так і грампозитивної мікрофлори та не викликають резистентності у мікроорганізмів. Наночастинки срібла здатні створювати стійкий антибактеріальний ефект та водночас мають протизапальні властивості, що дозволяє використовувати їх у якості антисептичного засобу та у складі перев'язувального матеріалу.

Метою роботи було експериментальне обґрунтування поєднаного застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні гнійної хірургічної інфекції.

Відповідно до поставлених задач використовувались такі методи дослідження: загальноклінічні, планіметричні, морфометричні, бактеріологічні, гістологічні, цитологічні, статистичні, атомно-емісійну спектроскопію з індуктивно зв'язаною плазмою, просвічуючу електронну мікроскопію, атомно-абсорбційну спектроскопію, растрову електронну мікроскопію, енергодисперсійну рентгенівську спектроскопію.

В мікробіологічних дослідженнях були вивчені антимікробні властивості наночастинок срібла та їх поєднаного застосування з

низькочастотним ультразвуком проти збудників гнійної хірургічної інфекції.

Цитотоксичні властивості наночастинок срібла були досліджені на культурі клітин дермальних фібробластів.

Експериментальне дослідження *in-vivo* було проведене на 240 білих нелінійних лабораторних щурах-самцях. Усі лабораторні тварини були розподілені на контрольну (лікування 0,05 % розчином Хлоргексидину, 60 щурів) та експериментальну (180 щурів) серії, кожна з яких була поділена на дві групи: гострі гнійні рани та гнійні рани, що тривалий час не загоюються. В кожній експериментальній групі виділяли по 3 підгрупи: лікування наночастинами срібла (30 щурів), низькочастотним ультразвуком з частотою  $26,5 \pm 1,98$  кГц (30 щурів), та наночастинами срібла в поєднанні з низькочастотним ультразвуком (30 щурів).

Експериментальну гостру гнійну рану створювали шляхом підшивання марлевого тампону на 72 год з сумішшю добових культур мікроорганізмів *S. aureus* (1,0 мл), *E. coli* (1,0 мл) та *P. aeruginosa* (1,0 мл) з концентрацією кожного по  $5 \times 10^9$  КУО/мл. Моделювання гнійних ран, які тривало не загоюються, створювали шляхом підшивання марлевого тампону на 10 діб (з заміною на третю та шосту добу) з сумішшю добових культур мікроорганізмів *S. aureus* (1,0 мл), *E. coli* (1,0 мл) та *P. aeruginosa* (1,0 мл) з концентрацією кожного по  $5 \times 10^9$  КУО/мл.

З метою оцінки бактерицидного ефекту наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку вивчали якісний та кількісний склад мікрофлори ран на 1-шу, 3-тю, 5-ту, 7-у, 10-ту, 14-ту та 21-шу добу експерименту.

Для оцінки ефективності лікування враховували терміни очищення ранових поверхонь від гнійно-некротичних тканин, терміни появи грануляцій, крайової епітелізації та повного загоєння ран.

Планіметричні дослідження динаміки ранового процесу виконували на 1-шу, 3-тю, 7-у, 14-ту та 21-шу добу експерименту. В ці ж терміни проводили цитологічне дослідження мазків відбитків за методикою М. П. Покровської

та М. С. Макарова у модифікації Д. М. Штейнберга та гістологічне дослідження тканин ранового дефекту.

Синтезовані наночастинки срібла, розмірами 25-60 нм, виявили високу антимікробну активність проти грампозитивних та грамнегативних збудників гнійної хірургічної інфекції *in vitro* та *in vivo*. Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) наночастинок срібла коливалась в межах від 12,5 мкг/мл до 25 мкг/мл, а мінімальна бактерицидна концентрація (МБК) – від 12,5 мкг/мл до 50 мкг/мл. Поєднане застосуванні наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку дозволило різко скоротити бактериостатичну та бактерицидну концентрації наночастинок срібла: для *S. aureus* та *P. aeruginosa* МІК зменшилася до 0,05 мкг/мл, для *E. coli* – до 0,4 мкг/мл, для *K. pneumoniae* – до 0,8 мкг/мл, для *P. vulgaris* – до 0,2 мкг/мл, для *S. pyogenes* – до 0,1 мкг/мл, для *C. albicans* – до 0,012 мкг/мл; МБК для *E. coli* та *P. vulgaris* складала 0,8 мкг/мл, *S. aureus* – 0,1 мкг/мл, *C. albicans* – 0,05 мкг/мл, *K. pneumoniae* – 1,6 мкг/мл, *S. pyogenes* – 0,4 мкг/мл, *P. aeruginosa* – 0,2 мкг/мл. Поєднане застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку прискорювало швидкість елімінації збудників та покращувало антибіоплівкову активність наночастинок срібла.

На культурі клітин дермальних фібробластів не спостерігалось цитотоксичної дії наночастинок срібла через 72 год при концентраціях нижче 3,2 мкг/мл, та через 24 год – при концентраціях наночастинок срібла нижче 6,4 мкг/мл. Ефективна антимікробна концентрація наночастинок срібла у поєднанні з низькочастотним ультразвуком ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) не перевищувала допустимих цитотоксичних значень, що дозволяє застосовувати наночастинки срібла при лікуванні гнійної хірургічної інфекції у концентраціях нижче 1,6 мкг/мл.

Результати експериментального дослідження на лабораторних щурах *in-vivo* вказують на позитивну динаміку загоєння та прискорення всіх фаз ранового процесу гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються при поєднаному використанні наночастинок срібла та

низькочастотного ультразвуку.

Поєднане застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) при лікуванні гострих гнійних ран дозволяє прискорити загоєння за рахунок швидшого очищення ран від гнійно-некротичних тканин, кращої елімінації бактеріальної мікрофлори, швидших термінів появи грануляцій та епітелізації, порівняно з лікуванням 0,05 % розчином Хлоргексидину, монотерапією наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. Повне закриття ранових дефектів гострих гнійних ран настало на 11,3 днів швидше ( $p \leq 0,0001$ ), порівняно з лікуванням розчином Хлоргексидину; на 5,1 доби швидше ( $p < 0,05$ ), порівняно з монотерапією наночастинок срібла; та на 2,2 доби швидше ( $p < 0,05$ ), в порівнянні з монотерапією низькочастотним ультразвуком.

При лікуванні гнійних експериментальних ран, що тривало не загоюються, з поєднаним використанням наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку ( $26,5 \pm 1,98$  кГц), у порівнянні з лікуванням 0,05 % розчином Хлоргексидину, монотерапією наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком, спостерігалось швидше очищення ран від гнійно-некротичних тканин, краща елімінація бактеріальної мікрофлори, швидші терміни появи грануляцій та епітелізації, і, як наслідок, швидше загоєння ран. Повна епітелізація гнійних ран, що тривало не загоюються, при поєднаному використанні наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку наступила на 6,9 днів швидше ( $p < 0,05$ ), порівняно з лікуванням 0,05 % розчином Хлоргексидину; на 2,9 доби швидше ( $p < 0,05$ ), порівняно з монотерапією наночастинками срібла; та на 4,2 доби швидше ( $p < 0,05$ ), у порівнянні з монотерапією низькочастотним ультразвуком.

При дослідженні крові щурів, концентрація срібла не перевищувала показники контрольної групи і була в межах від 0,06 мкг/л до 0,16 мкг/л. Місцеве використання наночастинок срібла як у якості монотерапії, так і у поєднанні з низькочастотним ультразвуком ( $26,5 \pm 1,98$  кГц), при лікуванні експериментальних гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не

загоюються, не здійснює системної резорбтивної дії, не викликає підвищення вмісту срібла в крові та в прилеглих до рани тканинах, однак має тенденцію до накопичення наночастинок срібла безпосередньо на поверхні гнійних ран.

Наукова новизна одержаних результатів.

1. Досліджена антимікробна активність наночастинок срібла, розміром 25-60 нм, по відношенню до збудників гнійної хірургічної інфекції: *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *C. albicans*.

2. Вперше запропоновано поєднане застосування наночастинок срібла, розміром 25-60 нм, та низькочастотного УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) для підсилення антимікробної активності наночастинок срібла.

3. Вперше досліджені цитотоксичні властивості наночастинок срібла, розміром 25-60 нм, на культурі клітин дермальних фібробластів.

4. Вперше запропоновано спосіб лікування гнійного ранового процесу наночастинами срібла та низькочастотним ультразвуком. Доведена ефективність та доцільність поєданого застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні експериментальних гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються (патент України на корисну модель № 139132, заявка № u 2019 05464 від 21.05.2019, опубл. 26.12.2019, бюлетень № 24).

5. Вперше досліджена можливість розвитку резорбтивної дії розчину наночастинок срібла, розміром 25-60 нм, при його поєданому застосуванні з низькочастотним ультразвуком ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) та проведено аналіз кумулятивної здатності наночастинок срібла в тканинах експериментальних гнійних ран.

Практичне значення одержаних результатів.

Спосіб поєданого використання наночастинок срібла разом з низькочастотним ультразвуком ефективний проти збудників гнійної хірургічної інфекції, патогенетично обґрунтований, має доведену ефективність на прикладі лікування експериментальних гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються.

Проведене дослідження дозволило визначити комплекс особливостей морфофункціонального стану експериментальних гнійних ран за умов застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку і може бути використане як підґрунтя під час дослідження процесів регенерації гнійних ран у експериментальній медицині та практиці гнійної хірургії.

Поєднане використання низькочастотного ультразвуку та наночастинок срібла істотно зменшує необхідну антибактеріальну концентрацію наночастинок срібла, що дозволяє їх застосовувати без цитотоксичної дії. Одержані результати можуть бути основою подальшого дослідження токсичності наночастинок срібла для організму людини.

*Ключові слова:* гнійна хірургічна інфекція, наночастинок срібла, низькочастотний ультразвук, антибактеріальна активність, цитотоксичність.

## ANNOTATION

*Myronov P. F.* Efficacy of purulent surgical infection treatment with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound (experimental study) – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on gaining the scientific degree of the doctor of philosophy on a specialty 222 – "Medicine". – Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2021.

Sumy State University, Sumy, 2021.

The dissertation is devoted to the research of the efficiency of the combined use of silver nanoparticles and low – frequency ultrasound in the treatment of purulent surgical infection.

Surgical infections of the skin and soft tissues now occupy one of the first places in the structure of surgical morbidity and account for 30-45 %. Despite adherence to the principles of asepsis and antiseptics, the development of minimally invasive technologies, widespread use of antibacterial drugs, the number of patients with wound infection does not tend to decrease, and the incidence of



surgical infection remains consistently high and ranks third in nosocomial infections.

A large number of postoperative purulent complications, which after relatively "clean" operations is 3-15 % and from 5 % to 30 % – after operations with acute surgical pathology, is a cause for concern. Mortality in diseases such as necrotic cellulitis and fasciitis reaches 50 %, and, in case of septic conditions, can reach 60 %. Recently, the situation has been complicated by the growing number of multidrug-resistant pathogens resistant not only to antibiotics but also to antiseptics.

The study of biological and physical properties of low-frequency ultrasound contributes to its wide use in surgery. Ultrasonic surgical treatment of purulent wounds has provided a good evidence base over the last 50 years and can be the method of choice due to low trauma, reduced treatment time, no side effects, and besides, this method is economically justified. Low-frequency ultrasound significantly accelerates the cleansing of the wound from fibrin and necrotic tissue, enhances the action of many antibiotics and antiseptics, promotes the deposition of drugs in the superficial layers of wounds, stimulates intracellular biosynthesis and regenerative processes, improves microcirculation, increases phagocytic activity of leukocytes.

Over the last two decades, the use of nanomaterials for wound healing and infection prevention has increased significantly. Particular attention is paid to silver nanoparticles, which, due to increased chemical potential, large specific surface area, high permeability, and adsorption activity, have a broad antibacterial spectrum of action against both gram-negative and gram-positive microflora and do not cause resistance in microorganisms. Silver nanoparticles are able to create a stable antibacterial effect and at the same time have anti-inflammatory properties, which allows them to be used as an antiseptic and as a dressing.

The aim of the study was the experimental substantiation of the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound in the treatment of purulent surgical infection.

According to the set tasks the following research methods were used: general clinical, planimetric, morphometric, bacteriological, histological, cytological, statistical, inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, transmission electron microscopy, atomic absorption spectrometry, scanning electron microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy.

In microbiological studies, the antimicrobial properties of silver nanoparticles and their combined use with low-frequency ultrasound against pathogens of purulent surgical infection were studied.

The cytotoxic properties of silver nanoparticles were studied in dermal fibroblast cell culture.

An in-vivo experimental study was performed on 240 white nonlinear male laboratory rats. All laboratory animals were divided into control (treatment with 0.05 % chlorhexidine solution, 60 rats) and experimental (180 rats) series, each of which was divided into two groups: acute purulent wounds and purulent wounds that do not heal for a long time. There were 3 subgroups in each experimental group: treatment with silver nanoparticles (30 rats), low-frequency ultrasound with a frequency of  $26.5 \pm 1.98$  kHz (30 rats), and silver nanoparticles in combination with low-frequency ultrasound (30 rats).

An experimental acute purulent wound was created by suturing a gauze swab for 72 h with a mixture of daily cultures of *S. aureus* (1.0 ml), *E. coli* (1.0 ml), and *P. aeruginosa* (1.0 ml) with a concentration of  $5 \times 10^9$  CFU/ml. Modeling of purulent wounds that do not heal for a long time were created by suturing a gauze swab for 10 days (with replacing on the third and sixth days) with a mixture of daily cultures of microorganisms *S. aureus* (1.0 ml), *E. coli* (1.0 ml) and *P. aeruginosa* (1.0 ml) with a concentration of  $5 \times 10^9$  CFU/ml.

In order to evaluate the bactericidal effect of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound, the qualitative and quantitative composition of the wound microflora on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 5<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 10<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, and 21<sup>st</sup> day of the experiment was studied.

To assess the effectiveness of treatment were taking into account the timing of cleaning wound surfaces from purulent-necrotic tissues, the timing of granulation, marginal epithelialization, and complete wound healing.

Planimetric studies of the dynamics of the wound process were performed on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, and 21<sup>st</sup> day of the experiment. At the same time, cytological examination of imprint smears according to the method of M. P. Pokrovskaya and M. S. Makarov in the modification of D. M. Steinberg and histological examination of wound defect tissues were performed.

The synthesized silver nanoparticles, 25-60 nm in size, showed high antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative pathogens of purulent surgical infection in vitro and in vivo. The minimum inhibitory concentration (MIC) of silver nanoparticles ranged from 12.5 µg/ml to 25 µg/ml, and the minimum bactericidal concentration (MBC) ranged from 12.5 µg/ml to 50 µg/ml. The combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound dramatically reduced the bacteriostatic and bactericidal concentrations of silver nanoparticles: for *S. aureus* and *P. aeruginosa* MIC decreased to 0.05 µg/ml, for *E. coli* – to 0.4 µg / ml, for *K. pneumoniae* – up to 0.8 µg/ml, for *P. vulgaris* - up to 0.2 µg/ml, for *S. pyogenes* – up to 0.1 µg/ml, for *C. albicans* – up to 0.012 µg/ml; MBC for *E. coli* and *P. vulgaris* was 0.8 µg/ml, *S. aureus* – 0.1 µg/ml, *C. albicans* – 0.05 µg/ml, *K. pneumoniae* – 1.6 µg/ml, *S. pyogenes* – 0.4 µg/ml, *P. aeruginosa* – 0.2 µg/ml. The combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound accelerated the rate of elimination of pathogens and improved the antibiofilm activity of silver nanoparticles.

No cytotoxic effect of silver nanoparticles was observed in dermal fibroblast cell culture after 72 h at concentrations below 3.2 µg/ml and after 24 h at silver nanoparticles concentrations below 6.4 µg/ml. The effective antimicrobial concentration of silver nanoparticles in combination with low-frequency ultrasound ( $26.5 \pm 1.98$  kHz) did not exceed the allowable cytotoxic values, which allows the use of silver nanoparticles in the treatment of purulent surgical infection at concentrations below 1.6 µg/ml.

The results of an experimental study in laboratory rats in-vivo indicate a positive dynamics of healing and acceleration of all phases of the wound process of acute purulent wounds and purulent wounds that do not heal for a long time with the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound.

The combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound ( $26.5 \pm 1.98$  kHz) in the treatment of acute purulent wounds can accelerate healing by faster cleansing of wounds from purulent-necrotic tissues, better elimination of bacterial microflora, faster granulation, and epithelialization, compared with the treatment of 0.05 % chlorhexidine solution, monotherapy with silver nanoparticles or low-frequency ultrasound. Complete closure of wound defects of acute purulent wounds occurred 11.3 days faster ( $p \leq 0.0001$ ), compared with the treatment of chlorhexidine solution; 5.1 days faster ( $p < 0.05$ ), compared with monotherapy of silver nanoparticles; and 2.2 days faster ( $p < 0.05$ ), compared with low-frequency ultrasound monotherapy.

In the treatment of purulent experimental wounds that do not heal for a long time, with the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound ( $26.5 \pm 1.98$  kHz), compared with 0.05 % chlorhexidine solution, silver nanoparticles or low-frequency ultrasound monotherapy, rapid ultrasound cleaning wounds from purulent-necrotic tissues, better elimination of bacterial microflora, faster granulation and epithelialization, and, as a consequence, faster wound healing. Complete epithelialization of purulent wounds that do not heal for a long time, with the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound, occurred 6.9 days faster ( $p < 0.05$ ), compared with treatment with 0.05 % solution of chlorhexidine; 2.9 days faster ( $p < 0.05$ ) compared with silver nanoparticles monotherapy; and 4.2 days faster ( $p < 0.05$ ), compared with low-frequency ultrasound monotherapy.

In the study of the rats' blood, the concentration of silver did not exceed the indicators of the control group and ranged from  $0.06 \mu\text{g/l}$  to  $0.16 \mu\text{g/l}$ . Local use of silver nanoparticles both as monotherapy and in combination with low-frequency ultrasound ( $26.5 \pm 1.98$  kHz) in the treatment of experimental acute purulent

wounds and purulent wounds that do not heal for a long time does not have a systemic resorptive effect, does not cause increasing content of silver in the blood and in the tissues adjacent to the wound, but tends to accumulate silver nanoparticles directly on the surface of purulent wounds.

The scientific novelty of the obtained results.

1. The antimicrobial activity of silver nanoparticles, size 25-60 nm, against pathogens of purulent surgical infection: *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *C. albicans* was studied.

2. For the first time, the combined use of silver nanoparticles with a size of 25-60 nm and low-frequency ultrasound ( $26.5 \pm 1.98$  kHz) was proposed to enhance the antimicrobial activity of silver nanoparticles.

3. Cytotoxic properties of silver nanoparticles, size 25-60 nm, on dermal fibroblast cell culture were studied for the first time.

4. For the first time a method of treatment of purulent wound process with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound was proposed. The efficiency and expediency of the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound in the treatment of experimental acute purulent wounds and purulent wounds that do not heal for a long time have been proven (patent of Ukraine for utility model № 139132, application № u 2019 05464 from 21.05.2019, publ. 26.12.2019, bulletin № 24).

5. For the first time the possibility of developing the resorptive action of a solution of silver nanoparticles, size 25-60 nm, when used in combination with low-frequency ultrasound ( $26.5 \pm 1.98$  kHz) was studied and the cumulative ability of silver nanoparticles in experimental purulent wounds was analyzed.

The practical significance of the results obtained.

The method of combined use of silver nanoparticles together with low-frequency ultrasound is effective against pathogens of purulent surgical infection, pathogenetically justified, and has proven effectiveness in the treatment of experimental acute purulent wounds and purulent wounds that do not heal for a long time.

The study allowed to determine a set of features of the morphofunctional state of experimental purulent wounds under the use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound and can be used as a basis in the study of purulent wound regeneration in experimental medicine and practice of purulent surgery.

The combined use of low-frequency ultrasound and silver nanoparticles significantly reduces the required antibacterial concentration of silver nanoparticles, which allows them to be used without cytotoxic effects. The obtained results may be the basis for further study of the toxicity of silver nanoparticles to the human body.

*Key words:* purulent surgical infection, silver nanoparticles, low-frequency ultrasound, antibacterial activity, cytotoxicity.

### **Список опублікованих праць за темою дисертації**

1. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V, Sikora V, Deineka V, Lyndin M, et al. Low-frequency ultrasound increase effectiveness of silver nanoparticles in a purulent wound model. *Biomed Eng Lett* [Internet]. 2020 Oct 17 [cited 2021 Feb 19];10(4):621-31. DOI: 10.1007/s13534-020-00174-5

2. Holubnycha V, Myronov P, Bugaiov V, Opanasyuk A, Dobrozhan O, Yanovska A, et al. Effect of ultrasound treatment on chitosan-silver nanoparticles antimicrobial activity. In: 8th International Conference on Nanomaterials: Applications and Properties [Internet]; 2018 Sept 9-14; Zatoka, Ukraine. IEEE; 2018 [cited 2019 Dec 18]; p. 04NNLS09-1-4. DOI: 10.1109/NAP.2018.8914849

3. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Голубнича ВМ, Погорелов МВ. Застосування наночастинок срібла в умовах ультразвукової кавітації при лікуванні гнійної хірургічної інфекції. *Харківська хірургічна школа*. 2019 Лют 20;1(94):60-4.

4. Миронов ПФ, Бугаев ВИ, Тимакова ЕА, Рогульская ЛА. Цитологическая характеристика экспериментальных гнойных ран при

лечении наночастицами серебра. Український журнал медицини, біології та спорту. [Интернет]. 2019 [цитировано 2020 Січ 22];4(6):60-6. DOI: 10.26693/jmbs04.06.060

5. Myronov PF, Bugaiov VI, Tymakova OO, Pogorielov MV, Opanasyuk AS. Cytological examination of experimental purulent wounds in the treatment of silver nanoparticles in ultrasound cavitation. EUMJ [Internet]. 2019 Dec 29 [cited 2020 Oct 21];7(4):389-95. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7\(4\):386-95](https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7(4):386-95)

6. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V. Combined antimicrobial effect of silver nanoparticles and ultrasound. In: Pogorielov M, editor. Topical issues of theoretical and clinical medicine. International scientific and practical conference of students, postgraduates and young scientists; 2018 Oct 17-19; Sumy. Sumy: Sumy State University; 2018. p. 98.

7. Holubnycha V, Myronov P, Husak Ye. Susceptibility of gram-negative rods to metallic nanoparticles. Medicine. 2019;55(suppl.1):94. (International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia; 2019 Feb 22; Riga.)

8. Миронов ПФ, Голубнича ВМ, Бугайов ВІ. Антибактеріальні властивості поєднаного застосування наночастинок срібла, міді та ультразвуку. В: XVI міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2019 Бер 28-29; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2019, с. 174-5.

9. Миронов ПФ. Лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинами срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Кондратенко ПГ, редактор. Матеріали 81-го наукового медичного конгресу студентів та молодих вчених. Медицина ХХІ сторіччя; 2019 Квіт 25-26; Краматорськ. Краматорськ: ТОВ «Краматорський друкарський дім»; 2019. с. 244-5.

10. Myronov P, Buzyna O, Bugaiov V. Application of silver nanoparticles and ultrasound in the treatment of purulent wounds. In: Tekin E, Oner C, editors. Istanbul international student congress. Current and emerging diseases; 2019 May 16-17; Istanbul. Turkey: Istanbul; 2019. p. 31-2.

11. Myronov P, Deineka V, Solodovnyk O. Cell toxicity of AgNPs and chitosan-AgNPs complex. In: International conference. Nanomaterials for biosensors and biomedical applications; 2019 2-4 July; Jurmala. Latvia; 2019. p. 55.

12. Myronov P. Microbiological evaluation the effectiveness of the purulent wounds healing with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In: Pogorielov M, editor. International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives; 2019 Oct 16-18; Sumy. Sumy: State University; 2019. p. 131.

13. Myronov P, Savchenko A, Husak Ye, Korniienko V, Holubnycha V. The influence of silver nanoparticles on formation of the escherichia coli biofilms. В: Руденок ТА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти. Медицина ХХІ століття; 2019 Лист 29; Харків. Харків: ХМАПО; 2019, с. 90.

14. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Опанасюк АМ, Загородня ТМ. Цитологічна характеристика експериментальних гнійних ран при лікуванні наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Руденок ТА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти. Медицина ХХІ століття; 2019 Лист 29; Харків. Харків: ХМАПО; 2019. с. 53-54.

15. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Погорелов МВ, Голубнича ВМ, Опанасюк АС, винахідники; Сумський державний університет, патентовласник. Спосіб лікування гнійних ран наночастинками срібла в умовах ультразвукової кавітації. Патент України № 139132. 2019 Груд 26.

16. Holubnycha V, Korniienko V, Myronov P. Antibiofilm activity of Ag nanoparticles against methicillin-resistant *S. aureus*. *Medicine*. 2020; 56(suppl.1):260. (International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia; 2020; Riga.)



17. Myronov P, Zahorodnya T. Efficiency of experimental chronic purulent wounds treatment with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In: Pogorielov M, editor. International Scientific Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives II; 2020 Oct 20-22; Sumy. Sumy: State University; 2020. p. 101.

18. Миронов ПФ. Антибактеріальні властивості наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні експериментальних хронічних гнійних ран. В: Матвеевко МС, редактор. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2021 Квіт 22-23; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2021, с. 102-3.

19. Миронов П. Гістологічні особливості процесу загоєння гнійних ран при лікуванні наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Корда ММ, редактор. XXV міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених; 2021 Квіт 12-14; Тернопіль. Тернопіль: «Укрмедкнига»; 2021, с. 123.

20. Миронов ПФ. Гистологические особенности процесса заживления гнойных ран при лечении наночастицами серебра. Журнал гепатогастроэнтерологических исследований. 2021;2(1):796-7. (Материалы 75-ой Международной научн.-практ. конф. студентов-медиков и молодых учёных. Современная медицина и фармацевтика: новые подходы и актуальные исследования; 2021; Самарканд.)

## ЗМІСТ

	стор.
<b>СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....</b>	<b>21</b>
<b>ВСТУП .....</b>	<b>22</b>
<b>РОЗДІЛ 1</b>	
<b>ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....</b>	<b>29</b>
1.1 Гнійна хірургічна інфекція та гнійні захворювання м'яких тканин – виклик для сучасної хірургії.....	29
1.2 Можливості низькочастотного ультразвуку при лікуванні гнійної хірургічної інфекції.....	39
1.3 Антибактеріальні властивості наночастинок срібла та їх застосування при лікуванні ранової інфекції.....	44
1.4 Токсикологічні особливості впливу срібла на організм людини.....	51
<b>РОЗДІЛ 2</b>	
<b>МАТЕРІАЛИ та МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....</b>	<b>55</b>
2.1 Синтез НЧС та їх фізико-хімічні властивості. ....	55
2.2 Оцінка антимікробної активності розчину НЧС, УЗ та їх поєданого застосування. ....	58
2.3 Дослідження цитотоксичності розчину НЧС.....	61
2.4 Експериментальне дослідження на лабораторних тваринах.....	62
2.4.1 Планіметричне дослідження ранових поверхонь .....	65
2.4.2 Вивчення якісного та кількісного складу мікрофлори ранових поверхонь .....	66
2.4.3 Гістологічне дослідження ранових поверхонь.....	66
2.4.4 Цитологічне дослідження ранових поверхонь.....	67
2.4.5 Вивчення резорбтивної дії НЧС.....	68
2.4.6 Визначення вмісту срібла в тканинах гнійних ран щурів після застосування НЧС та НЧС/УЗ.. ....	69
2.5 Статистична обробка результатів дослідження.....	70
<b>РОЗДІЛ 3</b>	
<b>РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....</b>	<b>71</b>

3.1 Антимікробні властивості розчину НЧС, УЗ та їх поєданого застосування .....	71
3.2 Цитотоксичність розчину НЧС.....	77
3.3 Особливості планіметричних показників гнійних ран в експериментальних та контрольних групах.....	80
3.3.1 Особливості планіметричних показників гострих гнійних ран. ...	80
3.3.2 Особливості планіметричних показників гнійних ран, що тривало не загоюються.....	84
3.4 Особливості мікрофлори гнійних ран у експериментальних та контрольних групах.....	88
3.4.1 Особливості мікрофлори ранових поверхонь при гострому гнійному рановому процесі.....	88
3.4.2 Особливості мікрофлори поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються.....	93
3.5 Патогістологічне дослідження гнійних ран у експериментальних та контрольних групах.....	98
3.5.1 Патогістологічне дослідження ран при гострому гнійному рановому процесі.....	98
3.5.2 Патогістологічне дослідження гнійних ран, що тривало не загоюються.....	113
3.6 Цитологічне дослідження ранових поверхонь у експериментальних та контрольних групах .....	132
3.6.1 Цитологічне дослідження ранових поверхонь при гострому гнійному рановому процесі .....	132
3.6.2 Цитологічне дослідження поверхонь гнійних ран, що тривало не загоюються.....	143
3.7 Дослідження резорбтивної дії НЧС.....	159
3.8 Дослідження вмісту срібла в тканинах гнійних ран щурів після застосування НЧС та НЧС/УЗ... ..	161
3.8.1 Дослідження вмісту срібла в тканинах гострих гнійних ран... ..	161
3.8.2 Дослідження вмісту срібла в тканинах гнійних ран, що тривало	

не загоюються.....	163
<b>РОЗДІЛ 4</b>	
<b>АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ .....</b>	<b>167</b>
<b>ВИСНОВКИ .....</b>	<b>180</b>
<b>ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ .....</b>	<b>182</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>	<b>183</b>
<b>ДОДАТКИ.....</b>	<b>216</b>

## СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВПГТ – відносна площа грануляційної тканини

ВПСД – відносна площа судин дерми

ВПСН – відносна площа стромального набряку

ЗПР – зменшення площі рани

КУО – колонієутворюючі одиниці

МБК – мінімально бактерицидна концентрація

МІК – мінімально інгібуюча концентрація

НЧС – наночастинки срібла

СерШЗРП – середня швидкість зменшення ранової поверхні

УЗ – ультразвук

w(Ag)% – масовий відсоток срібла

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Хірургічна інфекція шкіри та м'яких тканин в наш час займає одне з провідних місць у структурі хірургічної захворюваності та складає 30-45 % [1]. Незважаючи на дотримання принципів асептики і антисептики, розвиток малоінвазивних технологій, широке застосування антибактеріальних препаратів, відсоток хворих з гнійними рановими процесами не має тенденції до зменшення, а частота хірургічної інфекції залишається стабільно високою, та займає третє місце у структурі всіх внутрішньолікарняних інфекцій [2]. Летальність при таких захворюваннях як некротичний целюліт і фасціїт сягає 50 %, а при септичних станах може досягати 60 % [2]. Останнім часом ситуація ускладнилася у зв'язку зі зростанням числа полірезистентних патогенних мікроорганізмів, стійких не лише до антибіотиків, але й до антисептиків [3].

На сьогоднішній день використовується широкий спектр методів місцевого лікування гнійних захворювань м'яких тканин. Особливе місце серед них займає низькочастотна УЗ терапія.

УЗ хірургічна обробка гнійних ран є методом вибору завдяки малому травматизму, відсутності побічних ефектів та низької вартості [4]. Низькочастотний ультразвук (УЗ) суттєво прискорює терміни очищення рани від фібрину та некротичних тканин, завдяки антибактеріальним властивостям підсилює дію багатьох антибіотиків і антисептиків, сприяє депонуванню лікарських речовин у поверхневих шарах рани, стимулює внутрішньоклітинний біосинтез і регенеративні процеси, покращує мікроциркуляцію, підвищує фагоцитарну активність лейкоцитів [5, 6].

За останні два десятиліття значно збільшилося застосування наноматеріалів для загоєння ран та профілактики інфекцій. Особливу увагу привертають наночастинки срібла (НЧС), які, за рахунок збільшення хімічного потенціалу, великої питомої поверхні, високої проникаючої здатності і адсорбційної активності, мають широкий спектр

антибактеріальної дії на грамнегативну та грампозитивну мікрофлору, та не викликають формування резистентності у мікроорганізмів [7]. НЧС створюють стійкий антибактеріальний ефект та проявляють протизапальні властивості, що дозволяє використовувати їх у якості антисептичного засобу та у складі перев'язувального матеріалу [8].

Враховуючи наведене, вважаємо актуальним дослідження поєднаного застосування НЧС та низькочастотного УЗ при лікуванні гнійних ран м'яких тканин з метою прискорення їх очищення від гнійних некротичних тканин, зменшення бактеріального обсіменіння та стимуляції репаративних процесів.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконана на базі Центру колективного користування науковим обладнанням медичного інституту Сумського державного університету. Частина результатів роботи одержана під час виконання держбюджетної теми № 0118U003577 (2018-2020 рр.) «Ефективність протимікробної дії наноконструктивних комплексів (хітозан-нанометали) відносно полірезистентних клінічних ізолятів»; гранту НТСА СумДУ (2018 р.) «Дослідження змін хімічного складу та ультраструктури клітинної стінки антибіотикорезистентних клінічних ізолятів *E. coli* під впливом композитів «хітозан-нанометали».

### **Мета і завдання дослідження.**

Мета роботи – експериментальне обґрунтування поєднаного застосування НЧС та низькочастотного УЗ при лікуванні гнійної хірургічної інфекції.

Для досягнення поставленої мети були поставлені такі **завдання**:

1. Дослідити антимікробні властивості синтезованих НЧС, розміром 25-60 нм, низькочастотного УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) та їх поєднаного застосування;

2. Визначити цитотоксичну дію розчину НЧС на культурі клітин дермальних фібробластів та порівняти її з ефективною антибактеріальною концентрацією НЧС;

3. На прикладі експериментальних гострих гнійних ран дослідити перебіг гнійного ранового процесу при поєднаному застосуванні НЧС та низькочастотного УЗ;

4. Дослідити перебіг гнійного ранового процесу при поєднаному застосуванні НЧС та низькочастотного УЗ на прикладі експериментальних гнійних ран, що тривало не загоюються;

5. Визначити вміст срібла на поверхні експериментальних гнійних ран, в прилеглих до ран тканинах та в крові піддослідних тварин при місцевому застосуванні НЧС.

**Об'єкт дослідження** – гнійно-некротичні процеси м'яких тканин.

**Предмет досліджень** – особливості перебігу гнійного ранового процесу при поєднаному застосуванні НЧС та низькочастотного УЗ на прикладі експериментальної гнійної рани.

Відповідно до поставлених задач використовували такі **методи дослідження**: загальноклінічні, планіметричні, морфометричні, бактеріологічні, гістологічні, цитологічні, статистичні, атомно-емісійну спектроскопію з індуктивно зв'язаною плазмою, просвічуючу електронну мікроскопію, атомно-абсорбційну спектроскопію, растрову електронну мікроскопію, енергодисперсійну рентгенівську спектроскопію.

**Наукова новизна одержаних результатів.**

1. Досліджена антимікробна активність НЧС, розміром 25-60 нм, по відношенню до збудників гнійної хірургічної інфекції: *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *C. albicans*.

2. Вперше запропоновано поєднане застосування НЧС, розміром 25-60 нм, та низькочастотного УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) для підсилення антимікробної активності НЧС.

3. Вперше досліджені цитотоксичні властивості НЧС, розміром 25-60 нм, на культурі клітин дермальних фібробластів.

4. Вперше запропоновано спосіб лікування гнійного ранового процесу НЧС та низькочастотним УЗ. Доведена ефективність та доцільність



поєднаного застосування НЧС та низькочастотного УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) при лікуванні експериментальних гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються (патент України на корисну модель № 139132, заявка № u 2019 05464 від 21.05.2019, опубл. 26.12.2019, бюлетень № 24).

5. Вперше досліджена можливість розвитку резорбтивної дії розчину НЧС, розміром 25-60 нм, при його поєднаному застосуванні з низькочастотним УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) та проведено аналіз кумулятивної здатності НЧС в тканинах експериментальних гнійних ран.

#### **Практичне значення одержаних результатів.**

Спосіб поєднаного використання НЧС разом з низькочастотним УЗ ефективний проти збудників гнійної хірургічної інфекції, патогенетично обґрунтований, має доведену ефективність на прикладі лікування експериментальних гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються.

Проведене дослідження дозволило визначити комплекс особливостей морфофункціонального стану експериментальних гнійних ран за умов застосування НЧС та низькочастотного УЗ і може бути використане як підґрунтя під час дослідження процесів регенерації гнійних ран у експериментальній медицині та практиці гнійної хірургії.

Поєднане використання низькочастотного УЗ та НЧС істотно зменшує необхідну антибактеріальну концентрацію НЧС, що дозволяє їх застосовувати без цитотоксичної дії. Одержані результати можуть бути основою подальшого дослідження токсичності НЧС для організму людини.

Запропонований метод лікування гнійно-запальних процесів з використанням НЧС та низькочастотного УЗ впроваджено у наукову роботу та в навчальний процес відділу хірургії підшлункової залози та жовчовивідних проток Національного інституту хірургії та трансплантології ім. О. О. Шалімова НАМН України; кафедри громадського здоров'я Сумського державного університету; кафедри онкології Харківського національного медичного університету; кафедри загальної хірургії,

проктології та судинної хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти; кафедри мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету.

**Особистий внесок дисертанта.** Автором вивчено дані літератури і проведено їх аналіз, визначені мета і задачі дослідження, обґрунтована актуальність, проведено патентно-інформаційний пошук, розроблена програма досліджень, виконана обробка отриманих результатів та їх інтерпретація з наступним формулюванням висновків і практичних рекомендацій, виконано оформлення дисертації. Дисертантом особисто проведені експериментальні дослідження на щурах та розроблений спосіб лікування гнійних ран з використанням НЧС та низькочастотного УЗ. Здобувач самостійно виконував хірургічну обробку гнійних ран експериментальних тварин та їх планіметричний і загально-клінічний аналіз, проводив забір матеріалу з ран для бактеріологічного, цитологічного та гістологічного досліджень.

Автор особисто синтезував НЧС та визначав їх антибактеріальні властивості, здійснював обробку одержаних результатів. Мікробіологічні дослідження виконанні під керівництвом наукового керівника к. мед. наук, доц. В. М. Голубничої. Дослідження фізико-хімічних характеристик НЧС, растрову електронну мікроскопію, просвічуючу електронну мікроскопію та енергодисперсійну рентгенівську спектрометрію гнійних ран проведено та обговорено спільно з д. фіз.-мат. наук А. С. Опанасюком (Сумський державний університет, м. Суми, Україна). Гістологічні дослідження гнійних ран та їх обговорення проведені спільно з к. мед. наук, доцентом В. В. Сікорою (Сумський державний університет, м. Суми, Україна). Цитологічні дослідження мазків-відбитків та їх подальша інтерпретація проведені спільно з фахівцем О. О. Тимаковою (Сумський державний університет, м. Суми, Україна). Допомога д. мед. наук, професора М. В. Погорелова полягала в консультації з приводу статистичної обробки результатів дослідження та в уточненні методів дослідження (Сумський

державний університет, м. Суми, Україна).

Автором особисто підготовлено 9 тез доповідей, 5 статей, написаних у співавторстві та 1 патент на корисну модель. Участь співавторів полягала в науково-консультативній допомозі та в текстовому оформленні отриманих результатів. Переважна частина наукових результатів була представлена на конференціях та семінарах автором особисто. Всі наукові положення і висновки, винесені на захист, належать авторові дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні наукові результати роботи доповідалися і представлялися на таких конференціях та семінарах: Міжнародній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини» (Суми, 2018 р.); Міжнародній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біомедичні перспективи» (Суми, 2019, 2020 рр.); 77-й міжнародній науковій конференції Латвійського університету (Рига, Латвія, 2019 р.); 78-й міжнародній науковій конференції Латвійського університету (Рига, Латвія, 2020 р.); Міжнародній конференції «Nanomaterials for biosensor and biomedical applications» (Юрмала, Латвія, 2019 р.); 81-му науково-медичному конгресі студентів та молодих вчених «Медицина XXI сторіччя» (Краматорськ, 2019 р.); XVI міжнародній науковій конференції студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 2019 р.); XVIII міжнародній науковій конференції студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 2021 р.); міжнародному студентському конгресі «Current and emerging diseases» (Стамбул, Туреччина, 2019 р.); XXV міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2021 р.).

**Публікації.** Результати дисертаційної роботи опубліковано у 20 працях: 5 статей у наукових виданнях (з них 2 – у журналах, які індексуються НМБД Scopus, та 3 – у фахових виданнях України), 1 патент на корисну модель та 14 тез доповідей на наукових конференціях; 5 наукових праць опубліковано одноосібно.

**Структура і зміст роботи.** Робота складається із вступу, трьох розділів, загальних висновків та переліку використаних джерел. Дисертація викладена на 224 сторінках друкованого тексту, з яких 161 сторінка основного тексту, містить 96 рисунків і 11 таблиць. Список використаних джерел складається із 288 найменувань (23 – кирилицею, 265 – латиницею).

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1 Гнійна хірургічна інфекція та гнійні захворювання м'яких тканин – виклик для сучасної хірургії

На сучасному етапі розвитку хірургії профілактика та лікування гнійної хірургічної інфекції залишається складною проблемою. Існує значна кількість засобів та способів лікування гнійно-запальних захворювань зі своїми перевагами та недоліками, що свідчить за невирішеність проблеми в цілому [1]. Особливо увагу займає значний ріст частоти та тяжкості гнійно-запальних захворювань та ускладнень з частими незадовільними результатами лікування. Кожен третій хірургічний хворий страждає від гнійної інфекції та близько третини хірургічних ліжок займають хворі з різними гнійними захворюваннями [2].

Викликає занепокоєння значна кількість післяопераційних гнійних ускладнень, яка після умовно «чистих» операцій становить 3-15 %, та від 5 % до 30 % – після операцій з гострими хірургічними захворюваннями [9]. Після апендектомії, наприклад, кількість гнійних ускладнень сягає 2-23 %, після втручань на жовчних шляхах – 9,9-24,5 %, після операцій на шлунку – 10,3 % [10]. У хірургічних хворих з гнійними ускладненнями у післяопераційний період терміни перебування в стаціонарі збільшуються на 15-18 днів. Кількість летальних наслідків, зумовлених післяопераційними гнійними ускладненнями складає 20-64,7 % [11].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я 11 % пацієнтів, які перенесли хірургічні втручання, страждають від інфекційних ускладнень у ділянці хірургічного втручання [12]. Згідно щорічного звіту Європейського центру профілактики та контролю захворювань частота інфекційних ускладнень у зоні хірургічного втручання коливається від 0,5 % до 10,1 % [13]. Інфекційні ускладнення зони хірургічного втручання є найбільш частою

причиною подовження термінів одужання, більш високих фінансових витрат та підвищення рівня смертності оперованих [14]. Встановлено, що інфікування ділянки хірургічного втручання призводить до додаткових 4-13 днів перебування у лікарні, до триразового збільшення ймовірності повторної госпіталізації, розвитку вторинних ускладнень за типом бактеріємії, некротичних уражень та сепсису [15, 16, 17, 18].

Пошкодження шкіри зумовлює втрату захисних механізмів і, як наслідок, мікроорганізми легко колонізують ці зони, що веде до запалення, хронізації та септицемії. Формування біоплівки та стійкість до антибіотиків сприяє генералізації гнійного процесу і загрожує життю ускладненням [19, 20]. Подовження термінів загоєння рани пов'язане зі значним ризиком ускладнень, ампутаціями кінцівок, втратою органів та смертю [21]. Згідно з прогнозами Центру з контролю та профілактики захворювань у США рівень смертності від стійких та мультирезистентних інфекцій до 2050 року буде більшим, ніж смертність від онкологічних хвороб і сягатиме більше 10 мільйонів смертей на рік [22].

Незважаючи на те, що бактерії, які утворюють мікробіоту шкіри, відіграють корисну роль у запобіганні колонізації іншими патогенами, досягаючи критичного порогу в місці рани, вони можуть перешкоджати процесу загоєння, особливо при утворенні біоплівки [23].

Значну роль у збільшенні частоти гострих гнійних захворювань і післяопераційних ускладнень відіграють зміни в етіологічній структурі збудників [24]. Такі зміни відбуваються завдяки різним причинам, у тому числі внаслідок нераціонального застосування антибіотиків, глюкокортикоїдів, цитостатичних засобів, що призводить до розповсюдження поліантибіотикорезистентних патогенних штамів мікроорганізмів, стійких як до фізичних так і до хімічних методів лікування [25].

За останні 20 років відбулася зміна домінуючих збудників гнійних захворювань і післяопераційних ускладнень з грампозитивної на

грамнегативну флору (ентеробактерії, синьогнійна паличка тощо), яка трапляється у 60-70 % хворих [26, 27]. Між ентеробактерій провідну роль займає *E. coli*, яка висівається у 43,7-50 % хворих, а також протей, деякі види клебсієл, ентеробактер та інші [28]. За даними J. C. Alverdy зі співавт., в 44,1 % була висіяна грамнегативна флора, у тому числі в 11,6 % *P. aeruginosa* [28]. Встановлено, що *P. aeruginosa* та *E. coli* особливо характерні для хронічних ран і вражають більш глибокі шари шкіри [29].

Хронічні ранові інфекції зазвичай бувають полімікробними [30]. Розмноження аеробних бактерій призводить до гіпоксії тканин, що сприяє розвитку і анаеробних бактерій. Продукти життєдіяльності цих бактерій блокують фагоцитоз, а рана колонізується іще більшою кількістю хвороботворних мікроорганізмів [31]. Більш того, різні типи мікроорганізмів можуть обмінюватися поживними речовинами, підтримуючи тим самим розмноження один одного [23].

Бактеріальні біоплівки найчастіше утворюються при хронічних ранах і являють собою замкнуте середовище, створене бактеріями за рахунок вироблення позаклітинного полімеру, який діє як захисний шар [24, 30, 32]. Біоплівки створюють реактивний киснезалежний стан хронічного запалення, яке пригнічує реепітелізацію. Біоплівковий каркас захищає бактеріальні колонії від імунної відповіді хазяїна а також від антибактеріальної терапії [33]. Біоплівки частіше всього є полімікробними утворами, до складу яких найчастіше входять *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Prevotella spp.* і *Porphyromonas spp.* [24, 30, 32]. Хронічна інфекція зазвичай характеризується посиленням запальним процесом, зниженням оксигенації глибоких тканин, старінням фібробластів, порушенням ангиогенезу та зупинкою епітелізації [34].

Нераціональне застосування антибіотиків призвело до накопичення та розповсюдження високорезистентних збудників, алергізації населення, розвитку дисбактеріозів та труднощам у лікуванні різного роду ускладнень

[23]. Крім того, встановлено, що антибіотики у деяких випадках створюють імунодепресивну дію [35].

Стійкість до антибактеріальних препаратів поширена поміж основних збудників хірургічних інфекцій – *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *Proteus spp.* [36]. Близько 60 % штамів стафілокока, які були висіяні від хірургічних хворих, виявилися стійкими до 6-8 антибіотиків, а 70 % штамів кишкової палички і протей – до 3-6 антибіотиків [37]. Інші автори виявили первинну стійкість *S. aureus* у 40-90 % випадків [38, 39]. За даними М. I. Hutchings зі співавт., стійкість *S. aureus* до пеніциліну виросла з 75 % в 1995 р. до 97,9 % в 2017 р, стрептоміцину – з 34,6 % до 68 %, левоміцетину – з 58 % до 93,7 %, мономіцину – з 42 % до 81 %, еритроміцину – до 93 %, неоміцину – до 89,4 % [40].

Збільшення частоти грамнегативної мікрофлори в патогенезі гнійно-запальних захворювань та їх ускладнень частково зумовлено невиправданим застосуванням антибіотиків широкого спектру дії, які швидко знешкоджують кокову флору і таким способом створюють можливість для розвитку грамнегативної мікрофлори [41]. Поява антибіотикорезистентних форм мікроорганізмів, у тому числі і в навколишньому середовищі, зумовило виникнення в клінічній хірургії проблеми внутрішньолікарняної інфекції [42]. Вже на першому тижні перебування хворих у стаціонарі відбувається заміна первинної мікрофлори госпітальними штамми [43].

Відмічена певна закономірність у розповсюдженні госпітальної інфекції: зі збільшенням тривалості перебування хворих у стаціонарі зростає кількість інфікованих внутрішньолікарняними штамми – з 13-30 % при поступленні до 70-80 % при виписці [44]. До висновків щодо провідної ролі вторинного інфікування приходять й інші автори, які вивчали причини та шляхи розповсюдження внутрішньолікарняної інфекції [45, 46]. Так, за даними Х. F. Zhang із співавт., частота нагноєння післяопераційних ран у хворих, госпіталізованих для оперативного лікування у плановому порядку, які знаходились у стаціонарі протягом 1 доби, становила 1,4 %, двох діб –



2,04 %, трьох днів – 5,8 %, чотирьох – 10,2 %, п'яти – 17,4 % [47]. При цьому відбувається пригнічення антибіотиками росту чутливих до них сапрофітів, які конкурують з патогенною мікрофлорою, тим самим сприяючи розмноженню резистентних штамів та посиленню їх патогенних властивостей [47]. З огляду на це, майже кожний хворий, який отримував антибіотикотерапію, стає поширювачем стійкої мікрофлори.

При лікуванні гнійно-запальних захворювань, згідно сучасних вимог, використовується комплексний підхід, що визначає єдині принципи лікування ран будь-якої етіології, характеру та локалізації, а лікувальна тактика проводиться із урахуванням фазності перебігу ранового процесу [23, 48, 49]. Загальновідома класифікація ран ґрунтується на гістологічних, гістохімічних даних та результатах електронної мікроскопії: 1-а фаза – запалення, 2-а фаза – проліферації, 3-а фаза – реорганізації [50].

Успішне лікування гнійних ран може бути досягнуте лише при одночасному впливі на всі фактори гнійно-запального процесу та з урахуванням етапів загоєння. Враховуючи всі чинники, неможливо зупинитися на якомусь одному універсальному способі лікування гнійного процесу, та все ж основним методом лікування гнійних ран залишається хірургічна обробка, яка передбачає розкриття гнійного вогнища та очищення рани від некротичних тканин [51].

Розкриття гнійних порожнин та висічення нежиттєздатних тканин доповнюють обробкою пульсуючим струменем антимікробних засобів, вакуумною обробкою, постійним або фракційним ферментативним та антибактеріальним зрошенням з постійною активною аспірацією ранових виділень [52, 53, 54]. Розроблений метод активного дренивання за допомогою двохпросвітного дренажа [55]. Існують відомості про застосування протеолітичних ферментів у першу фазу перебігу ранового процесу [56]. Встановлено, що ці препарати мають некролітичні та протизапальні властивості, знижують вірулентність мікрофлори та підвищують її чутливість до антибіотиків. Однак, протеолітичні ферменти, потрапляючи у кров,

можуть підвищити її загальну протеолітичну активність і спровокувати септичний стан. Водночас протеолітичні ферменти діють лише при певному рівні рН ранового середовища і швидко інактивуються продуктами некробіозу [57].

При хірургічній обробці інфікованих ран і гнійних порожнин застосовують низько- та середньочастотний ультразвук [58, 59]. В якості озвучуваного середовища використовують розчини антибіотиків, антисептиків, протеолітичних ферментів, фізіологічний розчин з новокаїном тощо. Встановлено, що для низькочастотного ультразвуку більш характерне очищення ран від нежиттєздатних тканин та зменшення бактеріального забруднення, а для середньочастотного – стимулювання загоєння в другій фазі ранового процесу [59, 60].

Згідно з даними різних дослідників одним із способів підвищення якості хірургічної обробки та лікування гнійних ран є їх обробка високоенергетичним вуглекислим, низькоенергетичним гелій-неоновим або гелій-кадмієвим, а також азотним та криптоновим лазерами [61, 62]. У літературі трапляються дані за клінічну ефективність використання ендovasкулярного лазерного опромінення крові у комплексному лікуванні гнійно-септичних ускладнень [63].

Більш швидкому очищенню ран від тканинного детриту, нормалізації фагоцитарної активності нейтрофілів та зменшенню рівня циркулюючих імунних комплексів сприяє попередньо опромінена ультрафіолетовими променями аутотрансфузія крові [64]. Але критерії оцінки ефективності ультрафіолетового опромінення та умови його проведення остаточно ще не визначені.

Хірургічне лікування гнійних ран доповнюють дозованим охолодженням рідким азотом за допомогою кріопластичів або 96 % етиловим спиртом через апарат для локальної гіпотермії [65]. Існує досвід застосування у гнійній хірургії плазмової установки, що дозволяє локально застосувати

значну кількість енергії та викликати деструкцію нежиттєздатних тканин з одночасним надійним гемостазом [66].

В середньому на 2-3 дні дозволяє скоротити тривалість лікування гнійно-запальних хвороб та ускладнень застосування електромагнітного низькоінтенсивного випромінювання. Прямий вплив електромагнітного випромінювання на рану через 5-6 сеансів сприяв більш ранньому її очищенню від гнійних виділень і призводив до помітного зниження бактеріального обсіменіння та посилення фагоцитарної активності гранулоцитів [67].

Однак, перелічені методи лікування потребують відповідного технічного забезпечення, досвіду та професійних навиків, тому, на жаль, не набули широкого розповсюдження.

В комплексному лікуванні гнійних процесів використовують ферментативну обробку ран за допомогою колагенази [68]. Широко розповсюдження набув метод лікування із застосуванням озону [69].

При лікуванні інфікованих ран, трофічних виразок та пролежнів використовується метод електрофорезу [70]. Однак застосування електрофоретичного впливу має ряд протипоказань, особливо у кардіологічних хворих.

При гнійно-септичних ускладненнях відмічається ефективність гіпербаричної оксигенації, яка дозволяє нормалізувати тонус судин, покращити реологічні властивості крові та усунути тканинну гіпоксію [71, 72].

Різноманіття збудників ранової інфекції та різна їх чутливості до антибіотиків обумовило появу дуже великого числа антибактеріальних засобів. Також зросла кількість і хіміотерапевтичних препаратів. Проте, лікування ранових інфекцій традиційними антибактеріальними препаратами викликає дедалі більшу стурбованість через їх малу ефективність [73]. Вони відіграють, безсумнівно, важливу роль, однак, одночасно виник цілий ряд негативних явищ: токсичні та алергічні реакції, інколи аж до розвитку

анафілактичного шоку, ріст антибіотикорезистентності більшості представників ранової мікрофлори, поширення внутрішньогоспітальної інфекції [74, 75, 76].

Системна антибактеріальна терапія при гнійній хірургічній інфекції часто буває неефективною внаслідок обмеженого впливу на первинне вогнище інфекції, особливо при хронізації процесу з порушенням кровообігу [77]. При парентеральному застосуванні, антибіотики зв'язуються з білками крові, піддаються інактивації ферментами та повільно проникають у вогнище, яке вже через 36 годин відмежовується зоною лейкоцитарної інфільтрації від оточуючих тканин [78]. Враховуючи значне зниження ефективності антибактеріальної терапії, необхідно обов'язково враховувати чутливість мікрофлори до препаратів, призначати антибіотики з широким спектром дії та з вищими бактерицидними концентраціями, поєднувати антибактеріальні засоби з урахуванням їх синергізму та взаємопотенціюючої дії [79, 80]. За даним деяких авторів, антибіотики широко спектру дії відрізняються високою токсичністю та не мають пролонгуючих властивостей, а оптимальна їх дія при місцевому застосуванні проявляється при рН 7,5-8,0, у той час як показник рН гнійної рани становить 6,0 та менше [81, 82].

Удосконалення засобів для місцевого лікування є більш пріоритетним, враховуючи менші побічні ефекти та постійно зростаючу антибіотикорезистентність [83]. Місцеві протимікробні препарати, які не є антибіотиками, мають переваги, враховуючи простоту застосування і малу системну токсичність [14, 15, 16]. Місцева антимікробна терапія здатна посилити системну ефективність антибіотиків і пришвидшити ліквідацію ранової інфекції з меншими негативними наслідками [84].

Враховуючи наведене, цілком закономірним є намагання покращити місцевий вплив антибактеріальних препаратів безпосередньо у вогнищі запалення. Широкого поширення отримала пряма ендолімфатична антибіотикотерапія, яка забезпечує доставку антимікробних засобів до

лімфатичних вузлів зі створенням у лімфатичній системі високої тривалої концентрації антимікробного засобу, розриваючи, таким чином, замкнуте коло циркуляції мікробів по регіональним лімфатичним вузлам [82]. В комплексній терапії також використовують внутрішньоартеріальну регіонарну перфузію антибактеріальних засобів та лімфотропний антибактеріальний вплив з введенням препаратів у заочеревинну клітковину за допомогою хлорвінілового катетера [82].

Враховуючи велику роль саме місцевої терапії гнійних ран, є спроби створення пролонгованих форм протимікробних засобів шляхом внесення їх у мікрокапсули з полімерів акрилової кислоти, включення у склад поліуретанових сполук, а також створення різноманітних композитних матеріалів, у тому числі з використанням нанометалів та природного полімеру – хітозану [85, 86].

З метою загоєння ран та профілактики інфекцій за останні два десятиліття значно зросло застосування наноматеріалів з використанням полімерів, ліпідів, целюлози, діоксиду кремнію та ін.. [87, 88, 89, 90, 91]. Іншою групою протимікробних наноматеріалів, які ефективні при лікуванні ран, є наночастинки на основі металів [71, 88, 92, 93, 94]. Відомо, що наночастинки металів ефективні проти резистентних штамів бактерій, однак ще потребує подальшого вивчення їх застосування при лікуванні інфікованих ран *in vivo* [95, 96, 97, 98, 99, 100]. Проблема цитотоксичності відносно еукаріотичних клітин та можливих системних побічних ефектів нанометалів залишається наріжним каменем для їх впровадження в клінічну практику.

Існують численні приклади антисептичних засобів, які застосовуються для лікування гнійних ран під пов'язкою: діоксидин, діоксизоль, диметилсульфоксид, повідон-йод, йодинол, йодонат, йодопірон, фурацилін, етоній, хлоргексидин, декасан та інші [101, 102, 103, 104]. Однак, ці засоби при застосуванні швидко висихають та піддаються інактивації рановим ексудатом вже через 2-3 години. Більшість традиційних засобів, які використовуються для місцевого лікування, мають переважно

однонаправлений механізм дії – викликають або некролітичний, або осмотичний, або антибактеріальний ефект тощо. Хлоргексидин, наприклад, є одним з антисептиків, який набув широкого розповсюдження, рекомендований ВОЗ в переліку основних лікарських засобів, однак він проявляє цитотоксичні властивості по відношенню до клітин організму людини, а його активність залежить від рН середовища та присутності органічних речовин [105, 106].

З метою подовження терміну дії антисептиків застосовуються мазі, які містять антибіотики. Широкого застосування набули такі вітчизняні мазі як левоміколь та левосин [107, 108]. Однак, дифузні властивості цих препаратів низькі, тому досягти необхідних концентрацій діючих речовин у гнійному вогнищі дуже важко.

Патогенез ранового процесу вимагає комплексного підходу, тому ведуться розробки комбінованих препаратів з різними механізмами дії. Застосовуються комплекси йоду з полівінілпіролідом у рідкій формі та на мазевій основі, осмотична активність яких у 8-10 разів перевищує осмотичну активність 10 % розчину натрію хлориду [102]. Комбінація синтетичних протимікробних препаратів з антибіотиками дещо покращує терапевтичний ефект останніх за рахунок підвищення чутливості мікрофлори [109]. Втім дослідники звертають увагу на те, що хіміотерапевтичні препарати, у тому числі сульфаніламідного ряду, мають антитироїдні властивості і затримують процеси регенерації [110].

У другій та третій фазах ранового процесу використовують мазі на жировій та поліетиленоксидній основі з гормонами, піноутворюючі аерозолі, покриття із розчинного колагену, препарати на основі альгінової кислоти та інші [111, 112, 113]. У третій фазі ранового процесу часто використовуються препарати, що містять колаген [114].

При гнійних захворюваннях та ускладненнях спостерігається порушення специфічного та неспецифічного імунітету, тому важливого значення набуває оцінка імунологічного статусу хворих [115, 116].

Значна кількість гнійних ускладнень призводить до економічних втрат [117]. Хірургічна інфекція в сучасних умовах – проблема не лише клінічна, але й загальнобіологічна та соціальна. Боротьба з внутрішньолікарняною інфекцією, своєчасна ефективна загальна та місцева терапія гнійно-запальних захворювань і післяопераційних ускладнень, скорочення термінів лікування хворих є одними з найактуальніших завдань сучасної хірургії.

Таким чином, відповідно до сучасних поглядів багато питань у гнійній хірургії ще залишаються відкритими, а проблема лікування гнійно-запальних захворювань та післяопераційних гнійних ускладнень потребує подальшого вивчення та вдосконалення.

## **1.2 Можливості низькочастотного УЗ при лікуванні гнійної хірургічної інфекції**

З метою хірургічної обробки гнійних ран останнім часом пропонують використання низькочастотного УЗ, який є малотравматичним, економічно обґрунтованим, сприяє скороченню термінів лікування та не має побічних ефектів [118]. Обробка ран низькочастотним УЗ здійснюється шляхом озвучування антибактеріального розчину в порожнині ран та застосовується з метою видалення девіталізованих тканин за допомогою мікропотоків та кавітаційних ефектів [119].

Низькочастотний УЗ за допомогою кавітаційного потоку емульгує некротизовані тканини мікроскопічними бульбашками газу, стимулює мембрани навколишніх здорових клітин і робить бактерії більш чутливими до дії антибіотиків [118, 120]. Вважається, що цей метод сприяє загоєнню за рахунок посилення клітинної активності, стимулювання синтезу фактора росту, прискорення фібринолізу та руйнування біоплівки [121, 122]. Очищення ран відбувається за рахунок виділення лізосомальних ензимів, хемотаксичних факторів та бактерицидних катіонних білків. Ці речовини посилюють протеолітичну активність ексудату, стимулюють фагоцитарну та

антибактеріальну активність нейтрофілів [121]. Дослідження показали, що низькочастотний (40 кГц, 0,25 Вт/см) УЗ значно посилює ферментативний фібриноліз *in vitro* у порівнянні з відсутністю УЗ ( $p < 0,0001$ ), а прискорення фібринолізу збільшується зі збільшенням вихідної потужності ( $P < 0,001$ ) [123].

Низка досліджень вказує на наявність бактерицидної та бактеріостатичної дії низькочастотного УЗ [5, 124, 125, 126, 127]. Дія останнього визначається рядом чинників, а саме: частотою та інтенсивністю УЗ, типом бактерій, обладнанням, що використовується для УЗ кавітації, типом бактеріального планктону, або біоплівки [126]. Відомо, що низькочастотний УЗ посилює дію антибактеріальних засобів, механічно порушуючи бар'єрний ефект біоплівки бактерій і сприяючи проникненню ліків всередину біоплівки [128, 129, 130, 131]. УЗ прискорює метаболізм бактерій у біоплівці, збільшує споживання антибактеріальних препаратів мікробними клітинами, підсилюючи при цьому їх дію [129, 132]. А. К. Seth зі співавт. повідомляє про успішне лікування низькочастотним УЗ модельованих гнійних ран з біоплівками *Ps. aeruginosa* без допоміжних антибактеріальних засобів [133]. Однак, дослідники застерігають, що УЗ без додаткового застосування антибактеріальних препаратів може навіть стимулювати ріст бактерії, ймовірно, завдяки кращому надходженню поживних речовин та кисню [6, 134].

Низькочастотний УЗ є одним з безпечних та перспективних методів фізичної антисептики [133]. Нещодавні дослідження показали, що низькочастотний УЗ застосовувався для поліпшення бактерицидного ефекту антибіотиків у боротьбі з планктонними бактеріями, бактеріальними біоплівками, хламідіозом та іншими мікроорганізмами *in vitro* та *in vivo* [135, 136, 137, 138].

Загальновідомо, що бактеріальна інфекція в рані подовжує терміни її загоєння, а наявність біоплівки є частою причиною хронізації гнійного процесу [139]. Встановлено, що більше ніж 90 % бактерій здатні до



плівкоутворення, після чого стійкість до протимікробних препаратів збільшується. Бактерії різних видів у формі біоплівок можуть разом співіснувати та спричиняти синергійний ефект [128]. До основних способів руйнування біоплівок відносяться механічні та хімічні методи боротьби, у тому числі низькочастотний УЗ та антибактеріальна медикаментозна терапія [140]. Однак особливості структурної організації біоплівок різко знижують ефективність антибактеріальних препаратів, а тривале медикаментозне лікування може викликати антибіотикорезистентність та дисбактеріоз [141]. Встановлено, що після руйнації біоплівки бактерії стають більш чутливими до антибіотиків, що має велике значення при лікуванні бактеріальних інфекцій [140]. Є думка, що тільки завдяки поєднаному застосуванню фізичних та хімічних методів можуть бути досягнуті кращі результати в боротьбі з антибіотикорезистентністю [142].

Кавітаційний ефект, що виникає під впливом низькочастотного УЗ, спричиняє пошкодження навколишніх тканин, що обґрунтовує його застосування з метою очищення ран від гнійно-некротичних тканин та ранового детриту [143, 144]. УЗ хірургічна обробка гнійних ран є складовою їх успішного лікування: УЗ видаляє некротичну тканину, зменшує рівень хронічного запального фактора, збільшує секрецію цитокінів, сприяє дозріванню грануляційної тканини та зменшує всмоктування токсинів [145, 146, 147]. УЗ обробка сприяє загоєнню різних типів тканин, включаючи кістки, сухожилля, м'язи, хрящі та зв'язки [148, 149, 150].

Доведено, що механічна дія УЗ робить певний вплив на поліпшення проникаючої здатності м'яких тканин для різних речовин і застосовується для трансдермальної доставки медикаментозних засобів [151]. Одночасна взаємодія УЗ та ліків виявилась надійним методом при клінічному застосуванні [152]. Вважається, що індуковане УЗ посилене проникнення медикаментозного засобу в клітини відбувається внаслідок коливань газових бульбашок у середовищі [153]. Ці коливання спричиняють кавітаційний ефект поруч із клітинною мембраною, роблячи її більш проникною для

дрібних молекул, збільшуючи дифузію ліків [154]. Протизапальні та антибактеріальні властивості срібла на тлі підсиленої проникаючої здатності УЗ обґрунтовують гіпотезу їх ефективного поєднання при лікуванні гнійних ран.

Крім того, УЗ зменшує запальні явища та покращує репаративні процеси в рані, підвищує експресію TGF- $\beta$ 1 (трансформуючого фактору росту бета 1) та VEGF (фактору росту судинного ендотелію), індукує проліферацію та диференціацію ендотеліальних клітин судин та фібробластів, регулює процес неоваскуляризації [155]. Крім того, УЗ також зменшує експресію IL-6 (маркеру запального процесу) та TNF- $\alpha$  (фактору некрозу пухлини), пригнічує патологічну запальну реакцію, тим самим прискорюючи загоєння ран [155]. J. Escandon зі співавт. повідомляє про зменшення рівня інтерлейкінів 1, 6, 8 та 11 і фактора росту ендотелію судин у порівнянні з вихідними значеннями. Виявлена значуща кореляція між зменшенням розміру рани і зниженням експресії запальних цитокінів [156]. J. A. Samuels зі співавт. повідомляють про швидше загоєння ран при УЗ терапії, яке корелює з виявленням підвищеної клітинної проліферації *in vitro* [157]. Ці автори також спостерігали тенденцію до зниження цитокінів, матриксної металопротеїнази, фактора росту та макрофагів при лікуванні УЗ.

У дослідженнях на лабораторних тваринах було показано, що УЗ стимулює вивільнення гістаміну, сприяє ангіогенезу, дегрануляції опасистих клітин та утворенню колагену, збільшує вміст внутрішньоклітинного кальцію, що позитивно відображається на загоєнні ран [158]. R. W. Bessette зі співавт. на прикладі інфікованих ран виявили, що після обробки УЗ фібробласти збільшують лізосомальну активність та синтез колагену [159]. Ці ж автори спостерігали, що УЗ з частотою 25 кГц швидко та вибірково солюбілізує фібринні маси без шкідливого впливу на грануляційну тканину [159]. Інші дослідники також відмічали подібні ефекти УЗ з частотою 25 кГц [160, 161].

Повідомлялось, що низькочастотна УЗ терапія зменшувала ексудативні виділення та нашарування фібрину в хронічних ранах [162, 163]. Р. S. Cole зі співавт. відмічали зменшення гіперемії, набряку та інших клінічних ознак інфекції [164]. В нерандомізованій серії клінічних випадків на пацієнтах було показано значне зменшення розміру ран і більш швидше загоєння за допомогою УЗ терапії порівняно зі стандартним лікуванням [165]. Більш швидше зменшення площі ранових дефектів та скорочення термінів лікування хронічних ран при використанні УЗ показано в працях W. J. Ennis та V.R. Driver зі співавт. [166, 167].

Низькочастотна УЗ терапія завдяки своїй малотравматичності та селективності не викликає масивних кровотеч, покращує дренажну функцію і є ефективною при санації важкодоступних місць – гнійних карманів та затоків. УЗ може знизити час стандартної первинної та повторної хірургічної обробки ран, що особливо важливо для тяжких хворих та для пацієнтів, які мають протипоказання до загального наркозу [168, 169]. Більшість УЗ апаратів є портативними, а сама УЗ терапія не вимагає додаткових ресурсів і може застосовуватись як у стаціонарних умовах так і в амбулаторних, а, в деяких випадках, і при лікуванні вдома [169].

Ще однією позитивною властивістю низькочастотного УЗ є його безболісність. V. R. Driver зі співавт. виявили зниження суб'єктивної оцінки болю у середньому на 79 % у хворих, які отримували УЗ терапію [167]. В дослідженні Р. S. Cole зі співавт. пацієнти також повідомили про зменшення суб'єктивної оцінки болю майже на 3 бали після застосування УЗ [164].

Незважаючи на переваги УЗ терапії, багато питань ще залишаються відкритими, а саме: остаточно не з'ясовано, які саме технічні характеристики УЗ краще підходять для тих чи інших ран, кратність та тривалість застосування УЗ, його ефективність у поєднанні з різними антибактеріальними засобами.

### 1.3 Антибактеріальні властивості НЧС та їх застосування при лікуванні ранової інфекції

Лікувальні антибактеріальні властивості срібла відомі ще з античних часів та згадуються в працях Геродота і Гіппократа [170]. Починаючи з XIX століття препарати срібла (нітрат срібла, сульфадіазин срібла, цеоліт срібла, срібний порошок, оксид срібла, хлорид срібла) стали широко використовуватися в офіційній медицині як антимікробні засоби [171]. У 20-х роках минулого сторіччя Управлінням з контролю за продуктами та ліками в США було схвалено використання колоїдного срібла, проте, з появою перших антибіотиків медичне застосування препаратів срібла поступово зменшилось [172].

Стрімкий ріст антибіотикорезистентності за останні роки стимулював пошук нових альтернативних антибактеріальних засобів, а розвиток нанотехнологій призвів до відновлення інтересу до препаратів срібла. Розвиток нанотехнологій дозволив маніпулювати розмірами та властивостями речовин на нанорівні, результатом чого стало збільшення антимікробного потенціалу срібла при використанні його у формі наночастинок. Даний ефект пов'язаний зі змінами фізико-хімічних властивостей матеріалів на нанорівні: збільшення коефіцієнта площі поверхні до об'єму наночастинок підвищує їх реактивність [173].

Наночастинки металів проявляють фізико-хімічні та біологічні властивості, які відрізняються від властивостей їх макроаналогів за рахунок збільшення хімічного потенціалу, великої питомої поверхні і, як наслідок, високої проникаючої здатності та адсорбційної активності [7]. Велика поверхня НЧС збільшує можливість взаємодії іонів срібла з бактеріями, а нанорозміри забезпечують вивільнення іонів у будь-якій точці тіла, що неможливо для більш великих частинок срібла [174].

Доведено, що НЧС мають більш виражені антимікробні властивості, ніж антибіотики, а також є ефективними проти антибіотикорезистентних

штамів бактерій [175]. Вважається, що антибактеріальна активність напряду залежить від розмірів НЧС: чим менший розмір, тим більш виражена антибактеріальна дія, оскільки менші наночастки мають більшу сумарну площу поверхні, яка забезпечує кращу взаємодію з бактеріями [176]. Вважається також, що активність НЧС також залежить від їх форми: частинки з тригранною формою виявляють кращий бактерицидний ефект, порівняно зі сферичною і паличкоподібною [177].

НЧС виявляють високу бактерицидну активність по відношенню до бактерій, грибів та вірусів [173]. НЧС, розміром у діапазоні 10-100 нм, показали сильну бактерицидну дію щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій. Зокрема, ряд досліджень, проведених на грамнегативних бактеріях роду *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Vibrio* і грампозитивних бактеріях роду *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus* і *Streptococcus* показали високий бактерицидний ефект НЧС [178].

Бактерицидна дія покращується при збільшенні концентрації розчину НЧС і часу їх впливу на досліджуваний мікроорганізм. Більш виражений антимікробний ефект НЧС спостерігається відносно грамнегативних мікроорганізмів. Це пояснюється тим, що клітинна стінка грампозитивних бактерій містить набагато більше муреїну та пептидоглікану, що робить її негативно зарядженою. Завдяки негативному заряду клітинної стінки грампозитивних бактерій велика кількість катіонів срібла затримується в стінці мікроорганізмів, запобігаючи проникненню наночастинок у клітину [179, 180].

На прикладі музейних штамів *E. coli* та *S. aureus* експериментально показано, що динаміка інактивації бактерій інтенсивніша під дією наночастинок, ніж іонів  $Ag^+$  [181, 182]. Встановлено, що 3-5 мкг/мл – нижня межа концентрації НЧС, при якій досягалася 100 % гибель бактерій при часовій експозиції 24 год [182]. Інше порівняльне дослідження НЧС, нітрату

срібла та хлориду срібла також показало, що НЧС мають вищу антибактеріальну активність, ніж вільні іони срібла [183].

Встановлено, що НЧС виявляють також високу бактерицидну активність по відношенню до антибіотико-резистентних штамів бактерій, таких як *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, які є частими збудниками внутрішньолікарняних інфекцій [184, 185].

Антибактеріальна ефективність НЧС зумовлена, зокрема, їх здатністю запобігати утворенню біоплівки бактерій [186]. При дії ж НЧС на вже сформовані біоплівки спостерігається зменшення відносної кількості великих груп бактерій і пригнічення розвитку та функцій біоплівки [187].

Перспективні результати дають дослідження антибактеріальних властивостей композицій, до складу яких входять біомолекули бурих морських водоростей та НЧС, які синтезовані екологічно чистим та недорогим методом [188, 189]. Вивчені бактерицидні властивості НЧС, отриманих шляхом позаклітинного біосинтезу з використанням фунгального фільтрату *Rhizopus stolonifer* і водного розчину нітрату срібла, відносно полірезистентних штамів синьогнійної палички, виділених з опікової поверхні хворих хірургічного профілю. В експерименті *in vitro* показана висока антибактеріальна активність НЧС з МІК 20 мкмоль/мл [190]. Гарні антибактеріальні властивості виявлені в НЧС, які були стабілізовані природним полісахаридом хітозаном [191].

Проведено оцінку антимікробних властивостей НЧС *in vitro* порівняно з хлоргексидином щодо штамів бактерій *Streptococcus sanguis* і *Actinomyces viscosus*. Результати показали, що НЧС мають сильнішу антибактеріальну активність при більш низьких дозах порівняно з розчином хлоргексидину: МІК для НЧС і хлоргексидину склали 16 і 256 мкг/мл відповідно [192].

Оскільки гриби часто бувають супутниками хірургічної інфекції, проводяться дослідження з вивчення протигрибкової активності НЧС [193, 194]. Так, в експерименті продемонстрована висока фунгіцидна активність НЧС з високим відсотком пригнічення росту грибів *Cladosporium*

cladosporioides та *Aspergillus niger* [195]. Антифунгальна активність НЧС щодо цвілевих грибів родів *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.* та *Alternaria Alternata* перевершує в кілька разів дію протигрибкових препаратів натаміцин і флуконазол [196]. В експерименті *in vitro* виявлено виражену антифунгальну дію НЧС, яка перевершує дію амфотерицину більш ніж удвічі щодо представника цвілевих грибів роду *Aspergillus* [197].

Доведено, що НЧС здатні потенціювати дію інших антибактеріальних засобів. В ході дослідження по вивченню інгібуючої дії НЧС, екстракту евкالیпта та їх поєднаного застосування на ріст грам-негативної бактерії *E. coli* виявлено, що максимальна інгібуюча дія спостерігалася при одночасному застосуванні НЧС та екстракту евкالیпта [199]. Крім того, НЧС збільшують антибактеріальну активність різних антибіотиків. Було показано, що комбіноване використання НЧС з антибіотиками, такими як пеніцилін, амоксицилін, еритроміцин, ванкоміцин та ін., призводить до посилення антибактеріальних ефектів проти грампозитивних та грамнегативних бактерій, тобто спостерігається синергічний ефект [200].

Не дивлячись на широке застосування НЧС, антибактеріальний механізм дії НЧС ще на стадії вивчення. N. Naghsh зі співавт. зроблено припущення, що бактерицидний механізм НЧС може бути пов'язаний з утворенням вільних радикалів, які викликають окислювальний стрес і апоптоз в бактеріальних клітинах [199]. Іншої думки Н. Н. Laga зі співавт., які бактерицидний механізм дії НЧС вбачають у інгібуванні синтезу клітинної стінки, синтезу білка опосередкованої 30-ї рибосомальної субодиниці і синтезу нуклеїнових кислот [185].

Деякі дослідники, пояснюючи механізм впливу срібла на бактеріальну клітину, особливе значення надають інтрацелюлярним фізико-хімічним процесам, зокрема, окисненню протоплазми бактерій та її руйнуванню киснем, який міститься у воді, а сріблу відводять роль каталізатора [201]. Н. J. Park та співавт. наводять вагомні докази того, що НЧС самі продукують активні форми кисню, що може пояснювати як антибактеріальну активність

НЧС, так і його потенційну токсичність для людини [202, 203]. Є дані, що свідчать про утворення комплексів нуклеїнових кислот з важкими металами, внаслідок чого порушується стабільність ДНК і, відповідно, життєздатність бактерій [204, 205].

Існує також думка, що срібло не має прямого впливу на ДНК клітин, а діє опосередковано, збільшуючи кількість внутрішньоклітинних вільних радикалів, які знижують концентрацію внутрішньоклітинних активних сполук кисню [206].

Вважається, що бактерицидна дія НЧС напряму залежить від біологічноактивних іонів срібла, які вивільняються з наночастинок у водному розчині [207, 208, 209, 210, 211]. Бактерицидний ефект зумовлений взаємодією іонів срібла з різними компонентами бактеріальної клітини: з пептидогліканами клітинної стінки, плазматичною мембраною, бактеріальною ДНК і бактеріальними білками, зокрема ферментами, які беруть участь у механізмах транспорту електронів. під час виробництва АТФ [209, 210, 212, 213].

Вивчення антибактеріального механізму НЧС виявило порушення клітинної стінки та мембрани бактерій, що спричиняє колапс протонної помпи та інгібування синтезу АТФ [214].

Вважають, що механізм дії НЧС на мікробну клітину полягає в тому, що іони срібла абсорбуються клітинною оболонкою, яка виконує захисну функцію і викликають її лізис [206]. При цьому порушується мітотична активність і виникає бактериостатичний ефект. При проникненні іонів срібла в середину клітини, вони пригнічують ферменти дихального ланцюга та роз'єднують процеси дихання і окисного фосфорилування, в результаті чого клітина гине (бактерицидний ефект) [206, 215].

Досліджуються також ефекти НЧС не лише в якості місцевого антисептика, а й при інших шляхах введення. Експериментальне дослідження *in vivo* з вивченням ефектів НЧС при пероральному введенні в умовах моделювання перитоніту і менінгоенцефаліту показало, що НЧС виявляють



досить високу антибактеріальну і антибіоплівкову активність. Встановлено, що при моделюванні експериментального перитоніту, інтраперитонеальне застосування НЧС призводить до значного зменшення ознак запального ураження очеревини на гістологічному рівні [216].

В даний час НЧС активно впроваджуються в медичну практику. Набуло широкого розповсюдження використання НЧС у складі перев'язувального матеріалу. Медичний марлевий бинт, імпрегнований НЧС, має виражену антимікробну активність по відношенню до грампозитивних і грамнегативних бактерій, виділених з гнійних ран хворих хірургічних відділень. Причому резистентність мікроорганізмів до срібловмісного перев'язувального матеріалу не корелює зі спектром і рівнем їх чутливості до антибіотиків [217]. У дослідженнях М. R. Mohajeri-Tehrani та співавт. показана висока ефективність НЧС, імпрегнованих у перев'язувальний матеріал, при лікуванні діабетичних виразок стопи [218].

Привертають також увагу наукові дані, що вказують на протизапальні ефекти НЧС. В експериментах по моделюванню запалення шкірних покривів лабораторних тварин шляхом обробки динітрохлорбензолом виявлено протизапальний і ранозагоювальний ефект розчину НЧС. Було показано, що на тлі використання розчину НЧС відзначалося значне зменшення вираженості еритеми та набряку тканин, спостерігалось зменшення рівнів прозапальних цитокінів, таких як фактор некрозу пухлин –  $\alpha$  і інтерлейкін-8, та збільшення експресії протизапальних медіаторів – інтерлейкіну-4, епідермального фактору росту та кератиноцитного фактору росту 1 і 2 [8].

При моделюванні термічних опіків лабораторним щурам у групі з місцевим лікуванням опікової поверхні розчином НЧС, в сироватці крові спостерігалася істотна експресія одного з основних протизапальних цитокінів інтерлейкіну-10 у порівнянні з контрольними групами. Пік вироблення інтерлейкіну-10 спостерігався на 2-3 день після опікової травми, коли відбувається інтенсивна інфільтрація тканин макрофагами у вогнищі

запалення. У групі лікування НЧС був досягнутий найкращий косметичний ефект [219].

В експериментальному дослідженні *in vivo* ефективності перев'язувального матеріалу з НЧС при лікуванні гнійного запалення шкірних покривів встановлено, що їх місцеве використання прискорює адсорбцію ексудату з гнійно-некротичних уражень, сприяє зменшенню больового симптому, набряку, почервоніння навколо уражених тканин а також нормалізує локальну температуру тіла. Резорбція гнійного ексудату у вогнищі запалення, в свою чергу, скорочувала терміни лікування [220].

При моделюванні опікової травми у щурів, після застосування розчину НЧС було продемонстровано зменшення рівнів інтерферону- $\gamma$  та фактору некрозу пухлин- $\alpha$ , які беруть участь в запальному процесі, однак протизапальний механізм НЧС до кінця залишається не вивченим [36].

В експерименті на лабораторних щурах встановлено, що при обробці ран NanoAg-EGF спостерігалася збільшення кількості фібробластів з їх рівномірним щільним розподілом по всьому полю зору при світловій мікроскопії. Рани у щурів з обробкою NanoAg-EGF були чистішими, спостерігалися мінімальні явища ексудації, тривалість загоєння ран була на 4-5 днів меншою у порівнянні з контрольними групами, у яких відзначалися набряк навколишніх тканин, виражені ознаки ексудації, більш тривалі терміни загоєння ран з тенденцією до утворення хронічних виразок [222].

Окрім експериментальних досліджень існують вказівки на клінічні випробування фармакологічних препаратів на основі НЧС. Так, при вивченні гелю, що містить НЧС, при місцевому лікуванні інфекційних захворювань шкіри і слизових оболонок сечостатевого каналу, що супроводжуються гнійно-запальними проявами, показано високу антибактеріальну, антифунгальну та протизапальну дію. Подразнюючої дії на шкіру та слизові оболонки, ускладнень і токсичних ефектів при застосуванні зазначеного гелю не було виявлено [223].

Нанокристалічні срібні пов'язки для ран є у продажу вже більше двадцяти років (наприклад, Acticoat<sup>TM</sup>) і в даний час використовуються для лікування ран різної етіології [224, 225, 226, 227, 228, 229]. Срібловмісні пов'язки зменшують час загоєння ран у середньому на 3,35 дні та пришвидшують очищення інфікованих ран від бактерій без жодних негативних наслідків для організму людини [224].

В іншому дослідженні хітозан-нанокристалічна срібна пов'язка показала кращі показники загоєння (89 %) порівняно із пов'язками з сульфадіазином срібла (68 %) та плівкою хітозану (74 %) [231]. Інша нанокристалічна срібна пов'язка виявилася також безпечною та ефективною при лікуванні хронічних венозних виразок нижніх кінцівок. Загоєння було пов'язане зі зменшенням кількості ранових бактерій та нейтрофільного запалення [232].

НЧС входять до складу поверхневих мазей та кремів для запобігання та лікування інфекцій в опікових і відкритих ранах [233].

НЧС називають новим поколінням протимікробних засобів [234]. Однак, широке застосування НЧС у медичній практиці вимагає проведення попередньої ретельної оцінки їх безпеки та ефективності.

#### **1.4 Токсикологічні особливості впливу срібла на організм людини.**

Токсичність для будь-якого ксенобіотичного матеріалу, у тому числі й срібла, безпосередньо пов'язана з кількістю, що потрапляє в тканини організму, його метаболізмом та накопиченням в органах-мішенях, а також вразливістю клітин до незворотних токсичних змін. Клінічні та експериментальні дослідження показали, що метали, які всмоктуються в організм, взаємодіють і конкурують за місця зв'язування на білках-носіях. У випадках, коли захисні механізми, забезпечені ключовими металозв'язуючими білками, такими як металотіонеїни та епідермальна бар'єрна функція, насичуються, відбуваються токсичні зміни в організмі

[235]. Встановлено, що срібло може потрапляти в організм при вдиханні, парентеральному введенні та контактному (через шкіру та слизові). Незалежно від способу потрапляння в організм, метаболічні шляхи срібла подібні [236].

Клінічні та експериментальні дослідження показують, що всмоктування срібла через шкіру надзвичайно низьке. Епідермальний кератин та фосфоліпіди ефективно стримують проникнення срібла у глибокі тканини за рахунок наявності відкритих сульфгідрильних груп, які незворотно зв'язують вільні іони срібла [237, 238]. Генералізована аргірія трапляється у випадках, коли срібло тривало проникає в організм переважно через слизові дихальних шляхів на промисловому виробництві, або з забрудненими продуктами харчування [239].

Дослідження з гігієни праці демонструють, що найбільший ризик поглинання срібла буває після тривалого впливу пилу оксиду срібла або частинок нітрату срібла, що трапляється при осадженні інертних осадів сульфідів срібла або селенідів срібла, і проявляється у вигляді аргірії шкіри та очей [240, 241]. Поглинання срібла та підвищення його концентрації у крові трапляється у працівників, які протягом багатьох років контактували зі сполуками срібла [240, 242]. Однак, остаточно не було з'ясовано, скільки срібла всмоктується в кровообіг із шлунково-кишкового тракту, легенів та методом через шкірної абсорбції. За даними S. A. Armitage та співавт., які вивчали вміст срібла у крові робітників, які тривало контактували зі срібловмісними речовинами, встановлені концентрації срібла у діапазоні від 0,1 до 23,0 мкг/л [243]. Di Vincenzo та ін. зазначили, що у 37 працівників, які піддавалися впливу срібла при виплавці та переробці, середні концентрації срібла в крові становили 11 мкг/л [240].

Показано, що часте використання металевого срібла з гігієнічною метою може призвести до черезшкірного проникнення і збільшення вмісту срібла в крові та незначного накопичення срібла в шкірі [236]. Проте встановлено, що при накладанні срібловмісної пов'язки на рани з розрахунку 85 мг/10 см<sup>2</sup> пацієнтам з хронічними виразками протягом 4 тижнів рівень

срібла у крові пацієнтів суттєво не відрізнявся від рівня контролю. Не було також виявлено взаємозв'язку між концентрацією срібла у крові та величиною виразок і кількістю виконаних перев'язок [235].

Було відмічено, що лише 4 % від загальної кількості іонів  $\text{Ag}^+$ , які виділяються при місцевому застосованому розчині нітрату срібла, поглинається через неушкоджену шкіру [244]. Незначне, але відчутне проникнення НЧС було продемонстровано на шкірі людини *in vitro* з перфузійними клітинами Франца [245]. При нанесенні розчину НЧС на неушкоджену та пошкоджену шкіру, концентрації срібла в розчинах клітин становили  $0,46 \text{ нг/см}^2$  та  $2,32 \text{ нг/см}^2$  відповідно. Проникнення срібла через шкіру морської свинки, яка за товщиною схожа на шкіру людини, оцінювалось в 1 % за 5 годин [246].

Експериментальні дослідження продемонстрували, що срібло, яке потрапляє у тканини, згодом виділяється у процесі нормальної репарації [247]. Клінічні дослідження, пов'язані з застосуванням срібловмісних пов'язок на рани показали, що більша частина іонів срібла, які виділяються в ранове ложе, осідає поверхнево і всмоктування відбувається в мінімальних концентраціях [248]. Білки в системному кровообігу та в місцях контакту (металотіонеїни I та II) швидко зв'язують невеликі концентрації іонів срібла. Максимальна пропускна потужність крові людини для срібла невідома, але, вважається, що вона залежить від концентрації альбумінів та макроглобулінів [240]. Металеве срібло є інертним для тканин людини, але іонізується у присутності вологи, рідин та виділень в організмі. Біологічно активні іони срібла виявляють сильну спорідненість до сульфгідрильних груп та інших аніонних лігандів білків, клітинних мембран та залишків тканин [249].

У дослідженні X. Q. Wang та співавт. було показано, що накладання пов'язок з НЧС на опікові рани підвищує рівень срібла у крові пропорційно розміру опіку: у 36 пацієнтів із обсягом опіку 13,4 % від загальної площі

поверхні тіла концентрація срібла в крові становила у середньому 114 мкг/л [250].

D. J. Varillo та співавт. продемонстрували, що застосування срібловмісної пов'язки BWD Silverlon призвело до високих концентрацій срібла в опіковій рані при відсутності іонів срібла у крові [251]. В іншому дослідженні той же автор наводить дані щодо концентрації срібла у крові морських свинок  $< 0,003$  мкг/г при моделюванні хімічного опіку на морських свинках [252].

Схожі дані наводить Р. М. Kharkar зі співавт. на прикладі інфікованих експериментальних ран свиней з використанням срібловмісної пов'язки ROCF-siNPT. Концентрація срібла у крові не перевищувала контрольні показники, та становила  $< 0,04$  мкг/г [253].

За даними G. Perrelli та співавт., варіабельність концентрації срібла в нативній крові у здорових людей становить до 10 мкг/л [254].

Таким чином, аналіз літературних джерел вказує на невирішеність проблеми токсичного впливу срібла на організм людини. Деякі джерела свідчать про можливість патологічного насичення крові та тканин організму сріблом при місцевому застосуванні срібловмісних засобів, тому ми вважали за доцільне провести дослідження вмісту срібла на поверхні експериментальних гнійних ран, в прилеглих до ранок тканинах та в крові піддослідних тварин при місцевому застосуванні НЧС.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Синтез НЧС та їх фізико-хімічні властивості

НЧС синтезували із застосуванням поліольного методу. Спочатку, 3,4 г полівінілпіролідону (K25, MW 24000) розчиняли у 20,0 мл етиленгліколю (чда > 99,9 %) і нагрівали до температури 155 °С. Паралельно розмішували 0,34 г нітрату срібла ( $\text{AgNO}_3$ , чда > 99,9 %) у 20,0 мл етиленгліколю до повного розчинення та крапельно додавали в попередньо нагрітий розчин. Реакцію витримували протягом 1 год при постійному перемішуванні та сталій температурі 155°С. Утворену коричневого кольору суміш охолоджували до кімнатної температури. З метою очищення від сторонніх домішок розчин НЧС розмішували в ізопропиловому спирті (чда > 99,9 %) у співвідношенні 1:4 та центрифугували при 10000 об/хв протягом 30 хв. Утворений осад НЧС висушували у вакуумній сушці при температурі 50 °С протягом 2 год. НЧС розмішували у стерильній дистильованій воді та, з метою попередження агломерації НЧС та гомогенізації розчину, обробляли низькочастотним УЗ (ультразвуковий диспергатор УЗДН-А, «СЕЛМІ», Україна) з частотою  $22 \pm 1,65$  кГц протягом 1 хв.

Концентрацію НЧС в розчині визначали методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою на оптичному емісійному спектрометрі iCAP 6300 Duo (Thermo Scientific, США).

Результати електронної скануючої мікроскопії показали, що синтезовані НЧС були переважно сферичної форми, розміром 25-60 нм (рис. 2.1). Після обробки низькочастотним УЗ НЧС були без ознак агломерації (рис. 2.2).

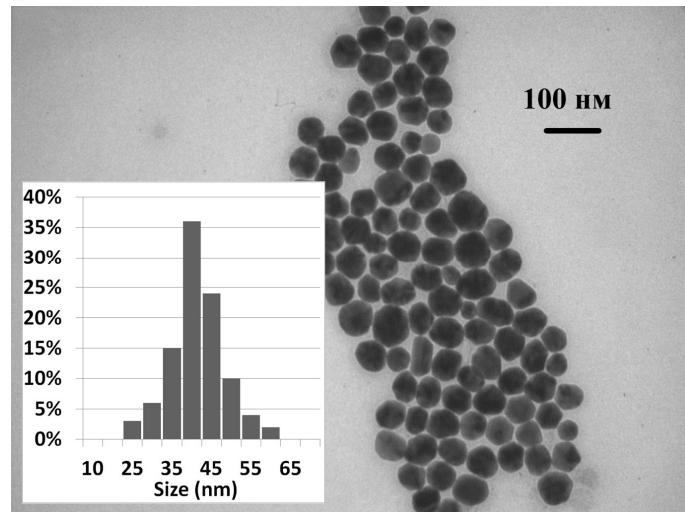


Рис. 2.1 – Просвічуюча електронна мікроскопія НЧС (ПЕМ-125К, Selmi, Україна), розподіл НЧС за розміром.

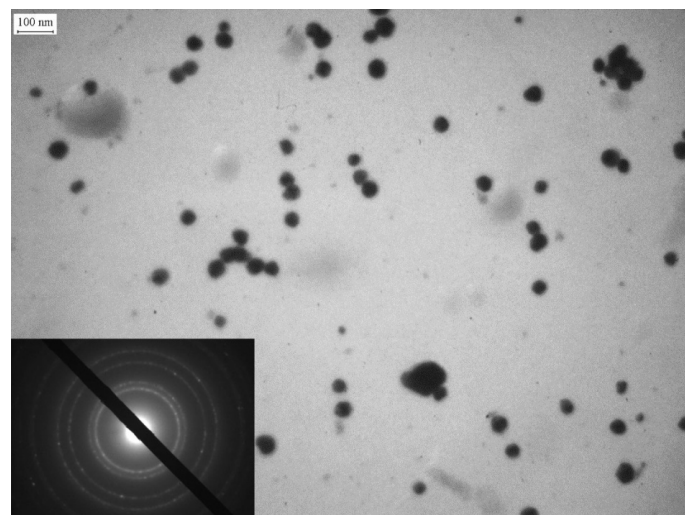


Рис. 2.2 – Просвічуюча електронна мікроскопія НЧС після обробки низькочастотним УЗ (ПЕМ-125К, Selmi, Україна), електронограма НЧС.

Рентгенівська дифрактограма НЧС (рис. 2.3) виявила чітко виражені дифракційні піки (111), (200), (220), (311), (222), (331) і (420) при  $38.15^\circ$ ,  $44.32^\circ$ ,  $64.55^\circ$ ,  $77.52^\circ$ ,  $81.55^\circ$ ,  $110.47^\circ$  та  $115.17^\circ$ , які відповідали даним картки JCPDS № 3-921 з кубічною гранецентрованою структурою кристалічної ґратки срібла. Відсутність інших дифракційних піків вказує на високу чистоту отриманих НЧС.



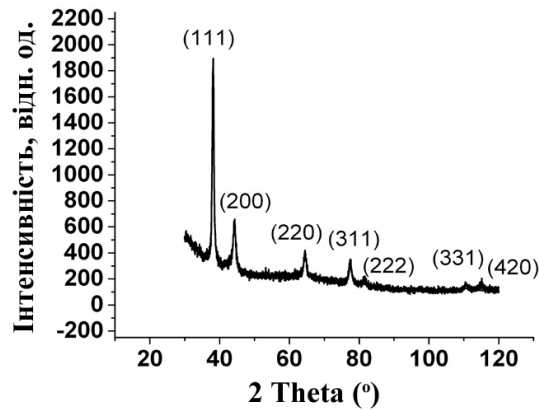


Рис. 2.3 – Рентгенівська дифрактограма наночастинок срібла (автоматизований дифрактометр ДРОН 4-07, НПП «Буревісник», Санкт-Петербург)

Елементний аналіз НЧС (рис. 2.4) показав наявність сильного піку при 3 кеВ, що підтверджує наявність срібла (91,2 %). Наявність піків, притаманних С (5,58 %), N (2,08 %), O (1,14 %), свідчать за присутність полівінілпіролідону ( $C_6H_9NO$ )<sub>n</sub>, який використовували в якості стабілізатора.

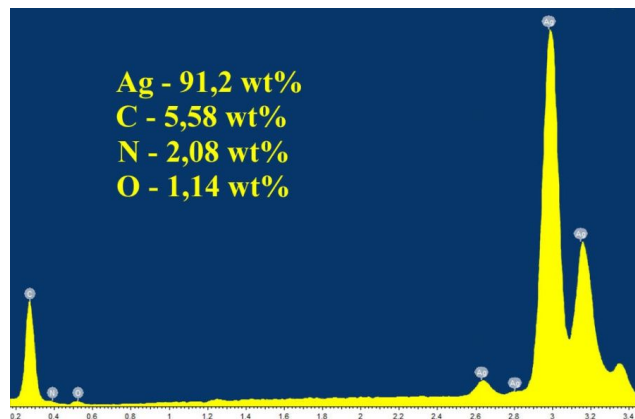


Рис. 2.4 – Елементний аналіз НЧС (скануючий електронний мікроскоп JSM-6390LV з детектором рентгенівських променів INCA 350, Jeol, Японія)

Ультрафіолетовий спектр НЧС, диспергованих у воді, виявив пік в максимальній точці  $\lambda = 450$  нм за рахунок поверхневого плазмонного резонансу, який залежить від форми, розміру, складу та морфології наночастинок (рис. 2.5).

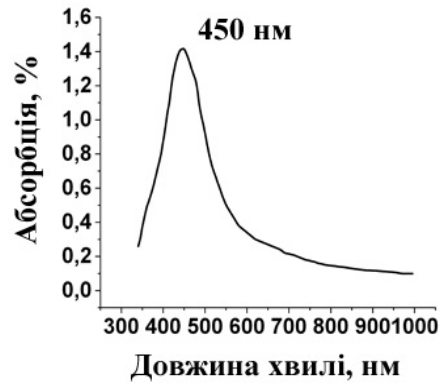


Рис. 2.5 – Ультрафіолетовий спектр розчину НЧС (спектрофотометр ЛІ-722, Lazany, Індія)

## 2.2 Оцінка антимікробної активності розчину НЧС, УЗ та їх поєднаного застосування

Мікробіологічні дослідження проводили на базі «Центру колективного користування науковим обладнанням СумДУ».

Протимікробну активність водних розчинів НЧС визначали методом серійних розведень в бульйоні згідно методичним вказівкам «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів», які затверджені Наказом МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р. [255]. Для визначення мінімально інгібуючих концентрацій (МІК) та мінімально бактерицидних концентрацій (МБК) розчину НЧС використовували клінічні ізоляти бактерій (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*), виділених від хворих з гнійними хірургічними захворюваннями (абсцеси, флегмони, карбункули, гідраденіти, мастити та ін.), які перебували на стаціонарному лікуванні в КНП «КЛ №5» СМР. Дані види збудників використовувались враховуючи найбільшу частоту їх поширеності.

Виділення та ідентифікацію збудників проводили згідно з наказом № 535 від 22.04.1985 р. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-

диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» [256]. Видову належність визначали за культуральними, тинкторіальними, морфологічними та фізіолого-біохімічними властивостями мікроорганізмів. Мікроскопічні дослідження проводились із забарвленням мазків за Грамом.

Виділені чисті культури мікроорганізмів культивували при температурі 37 °С протягом 24 год на скошеному агарі Мюллера-Хінтона, після чого готували мікробні суспензії (інокулюми) в 0,9 % розчині NaCl з концентрацією  $1,5 \times 10^8$  КУО/см<sup>3</sup>, що ідентично стандарту мутності 0,5 за Мак-Фарландом. Готували ряд пробірок з серійними розведеннями розчину НЧС у бульйоні Мюллера-Хінтона з такими концентраціями: 100 мкг/мл, 50 мкг/мл, 25 мкг/мл, 12,5 мкг/мл, 6,25 мкг/мл, 3,125 мкг/мл та 1,56 мкг/мл. Для інокуляції використовували 100 мкл попередньо розведеної мікробної суспензії з метою створення кінцевої концентрації досліджуваного мікроорганізму  $5 \times 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>. Одночасно проводили контроль росту мікроорганізмів без впливу НЧС, контроль НЧС без інокулятів та контроль поживного середовища. Досліджувані зразки культивували в термостаті при температурі 37 °С протягом 24 год. За МІК вважали найменшу концентрацію НЧС, яка пригнічувала видимий ріст досліджуваного мікроорганізму. За МБК вважали концентрацію, при якій наставав бактерицидний ефект.

Дослідження протимікробної активності НЧС у поєднанні з низькочастотним УЗ виконували аналогічним способом з тією лише відмінністю, що, перед культивуванням, досліджувані зразки НЧС з інокулятами мікроорганізмів піддавали впливу низькочастотного УЗ з частотою  $26,5 \pm 1,98$  кГц протягом 2 хв (апарат УРСК 7Н–22).

Окремо досліджували антибактеріальну активність низькочастотного УЗ аналогічним способом: перед культивуванням розведені до  $5 \times 10^5$  КУО/см<sup>3</sup> суспензії мікроорганізмів піддавали впливу низькочастотного УЗ з частотою  $26,5 \pm 1,98$  кГц протягом 2 хв (апарат УРСК 7Н–22).

Наступним етапом було дослідження динаміки зміни кількості мікроорганізмів під впливом НЧС, УЗ та їх поєднаного застосування.

Культивування мікроорганізмів проводили протягом 24 год в бульйоні Мюллера-Хінтона з розчинами НЧС, концентрації яких відповідали 1 МБК для кожного окремого мікроорганізму. Вихідна концентрація досліджуваних мікроорганізмів становила  $5 \times 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>. Часову залежність зміни кількості клітин визначали через 0 год, 0,5 год, 1 год, 3 год, 6 год, 12 год та 24 год після початку культивування шляхом секторних посівів на щільне поживне середовище (м'ясо-пептонний агар) з наступним інкубуванням протягом 24 год при температурі 37 °С згідно з наказом № 535 від 22.04.1985 р. [256]. Кількість КУО визначали шляхом підрахунку видимих колоній і відображали в логарифмічному значенні  $\log_{10}$ .

При дослідженні часової залежності зміни кількості мікроорганізмів під впливом поєднаного застосування НЧС та УЗ перед культивуванням досліджувані зразки розчинів НЧС з інокулятами мікроорганізмів піддавали впливу низькочастотного УЗ з частотою  $26,5 \pm 1,98$  кГц протягом 2 хв (апарат УРСК 7Н-22).

Для порівняння результатів аналогічно досліджували часову залежність зміни кількості мікроорганізмів під впливом низькочастотного УЗ з частотою  $26,5 \pm 1,98$  кГц протягом 2 хв (апарат УРСК 7Н-22) без розчинів НЧС.

Рівень метаболічної активності біоплівки мікроорганізмів під впливом НЧС, УЗ та їх поєднаного застосування оцінювали за допомогою редокс-індикатора Alamar Blue. Культивування мікроорганізмів (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*) проводили на 96-луночних планшетах в бульйоні Мюллера-Хінтона (100,0 мкл) з вихідною концентрацією досліджуваних мікроорганізмів  $5 \times 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>. На 1-шу, 3-тю та 7-му добу після інкубації лунки тричі промивали 0,9 % розчином NaCl, додавали розведені в бульйоні Мюллера-Хінтона НЧС (100,0 мкл) у концентраціях 2,5, 5, 10, 20 МІК та інкубували при температурі 37 °С протягом 24 годин. Після інкубації лунки тричі промивали 0,9 % розчином NaCl, після чого в кожен лунку додавали по 90,0 мкл бульйону Мюллера-Хінтона та 10,0 мкл розчину Alamar Blue

(«Інвітроген», США) та інкубували при температурі 37 °С протягом 1 год. У якості контролю використовували: 1) поживне середовище; 2) поживне середовище + Alamar Blue; 3) поживне середовище + Alamar Blue + НЧС; 4) мікроорганізми + поживне середовище + Alamar Blue.

Оптичну щільність досліджуваних лунок вимірювали на планшетному фотометрі Multiskan FC при довжинах хвиль 570 нм та 600 нм. Відсоток редукції Alamar Blue розраховували за формулою згідно протоколу виробника [257, 258].

Дослідження антибіоплівкової активності НЧС у поєднанні з низькочастотним УЗ виконували аналогічним способом з тією лише відмінністю, що, сформовані біоплівки підлягали обробці розведеними в бульйоні Мюллера-Хінтона НЧС та низькочастотним УЗ із частотою 40 кГц протягом 2 хв (Ultrasonic cleaner JP-020).

Окремо досліджували антибіоплівкову активність низькочастотного УЗ: перед культивуванням лунки з бульйоном Мюллера-Хінтона піддавали впливу низькочастотного УЗ з частотою 40 кГц протягом 2 хв (Ultrasonic cleaner JP-020).

Всі дослідження були виконані у трикратному повторенні.

### **2.3 Дослідження цитотоксичності розчину НЧС**

Цитотоксичність НЧС оцінювали з використанням культури клітин дермальних фібробластів (HDFs) виділених від здорових донорів («Пауа», м. Київ, Україна). Адгезію дермальних фібробластів та їх проліферацію оцінювали за здатністю редукувати розчин Alamar Blue<sup>®</sup> («Інвітроген», США). Клітини вирощували в культуральних флаконах площею 75 см<sup>2</sup> („Біолабтех ЛТД”, Україна) в стандартних умовах: 5 % зволоженого CO<sub>2</sub>, температура повітря 37 °С із заміною живильного середовища протягом кожних 2-3 днів. У якості живильного середовища використовували DMEM/F-12 (модифіковане за способом Дульбекко середовище Ігла та

поживне середовище F-12 у співвідношенні 1:1) („Біолабтех ЛТД”, Україна) з додаванням 2 мМ L-глутаміну, 100 од/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину, 2,5 мкг/мл амфотерицину В, 10 % фетальної сироватки телят (FBS) та 1,0 нг/мл основного фактору росту фібробластів (bFGF), („Біолабтех ЛТД”, Україна).

Після видалення середовища (клітини знімали з культурального посуду за допомогою стандартного розчину трипсин-ЕДТА, центрифугували, осад пересаджували), фібробласти висівали в лунки (1,0 мл в 1 лунку) зі щільністю  $2 \times 10^4$  клітин на лунку та інкубували протягом 24 год. Після цього в кожен лунку добавляли НЧС з такими концентраціями: 0,4; 0,8; 1,6; 3,2 та 6,4 мкг/мл.

Через 24 та 72 год Alamar Blue додавали в кожен лунку в кількості, що дорівнює 10 % об'єму лунки. Для позитивного контролю розчин Alamar Blue добавляли в лунки, що містили лише клітини фібробластів. Для негативного контролю розчин Alamar Blue добавляли в середовище без клітин. Планшети інкубували протягом 4 годин при 37 °С у темряві, після чого з кожної лунки відбирали по 100 мкл середовища, яке переносили в інший 96-луночний планшет та вимірювали оптичну щільність середовища за допомогою планшетного фотометру Multiskan FC («Thermo Fisher Scientific», США) при довжинах хвиль 570 нм та 600 нм. Цитотоксичність досліджуваних зразків НЧС визначали за зміною відсотку редукції Alamar Blue, який підраховували використовуючи рівняння згідно протоколу виробника [257, 258].

Морфологічні особливості клітин оцінювали за допомогою системи візуалізації клітин EVOS XL Core («ThermoFisher Scientific», США). Дослід проводили трикратно.

#### **2.4. Експериментальне дослідження на лабораторних тваринах**

Дослідження проводилось на 240 білих нелінійних лабораторних щурах-самцях, масою 200-240г. Всі тварини були оглянуті ветеринаром на

наявність захворювань, утримувались у віварії в однакових умовах з вільним доступом до корму та води. Експеримент проводився згідно «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986р.) [259], Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [260], «Етичних принципів та вказівок для експериментів на тваринах: 3-е видання» (Швейцарія, 2005 р.) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схваленими П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013р.). Всі процедури, що проводилися в дослідженні, затверджені висновком комісії Сумського державного університету з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень (протокол № 2/9 від 17 вересня 2021 р.).

*Модель гнійної рани.* Для загальної анестезії використовували в/м наркоз 5 % розчину кетаміну гідрохлориду (1 мг кетаміну на 100 г маси тварини). Лабораторних тварин голили в міжлопатковій ділянці та за кінцівки фіксували до предметного столика. З метою дотримання правил антисептики, операційне поле тричі обробляли 70 % розчином етилового спирту та обкладали стерильними серветками. Скальпелем у міжлопатковій зоні, розсікаючи шкіру та підшкірну клітковину, робили рановий дефект прямокутної форми розмірами  $1,0 \times 1,5$  см ( $S = 1,5\text{см}^2$ ), після чого краї та дно рани розчавлювали затискачем Кохера. За необхідності виконували гемостаз методом тугої тампонади. В рану підшивали марлевий тампон (складений марлевий бинт  $5 \times 10$  см), змочений сумішшю добових культур мікроорганізмів *S. aureus* (1,0 мл), *E. coli* (1,0 мл) та *P. aeruginosa* (1,0 мл) з концентрацією кожного по  $5 \times 10^9$  КУО/мл. Мікроорганізми були виділені від хворих з гнійною хірургічною патологією та обрані для моделювання гнійної рани враховуючи найбільшу частоту їх поширеності. Концентрації мікроорганізмів визначали за стандартом мутності МакФарланда. Марлевий тампон видаляли через 72 год та спостерігали характерні ознаки гнійного

запалення: гіперемія шкіри, набряк тканин та виділення гною з неприємним запахом.

Моделювання гнійних ран, які тривало не загоюються виконували в декілька етапів. Перший етап був аналогічний наведеному вище. На третю та на шосту добу виконували заміну марлевого тампону, змоченого сумішшю добових культур мікроорганізмів *S. aureus* (1,0 мл), *E. coli* (1,0 мл) та *P. aeruginosa* (1,0 мл) з концентрацією кожного по  $5 \times 10^9$  КУО/мл. На десяту добу тампон видаляли.

Лікування гнійних ран розпочинали з вилучення інфікованих марлевих серветок, евакуації гною, видалення некротичних тканин. Перев'язки та обробки ран здійснювали щоденно.

Усі лабораторні тварини були розподілені на 2 серії: гострі гнійні рани (120 щурів), та рани, що тривалий час не загоюються (120 щурів), кожна з яких була розподілена на дві групи: контрольну (30 щурів) та експериментальну (90 щурів). У кожній експериментальній групі виділяли по 3 підгрупи: лікування НЧС (30 щурів), УЗ (30 щурів), та НЧС у комбінації з УЗ (30 щурів).

У підгрупах «НЧС» рани промивали 0,01 % розчином НЧС та накладали стерильні марлеві пов'язки змочені 0,02 % розчином НЧС.

У підгрупах «УЗ» у першій фазі ранового процесу після заливки ранової порожнини 0,9 % розчином натрію хлориду (виробник: ПАТ "Інфузія", Україна; номер реєстраційного посвідчення: UA/12049/01/01; термін дії посвідчення: необмежений, з 05.01.2017; АТ код: B05XA03; наказ МОЗ № 7 від 05.01.2017р.), рани обробляли низькочастотним УЗ (апарат хірургічний ультразвуковий для санації біологічних об'єктів УРСК 7Н–22) з резонансною частотою  $26,5 \pm 1,98$  кГц і потужністю  $0,2$  Вт/см<sup>2</sup> при амплітуді коливань хвилеводу 0,05 мм і силі струму 10-12 мА. Тривалість процедури залежала від розміру ранової поверхні та у середньому становила 1 хв/1 см<sup>2</sup>. Після завершення процедури на рани накладали стерильні марлеві пов'язки.



У підгрупах «НЧС/УЗ» обробку ран проводили згідно розробленій методиці (патент України на корисну модель № 139132, заявка № u 2019 05464 від 21.05.2019, опубл. 26.12.2019, бюлетень № 24) [261]: порожнину ран промивали 0,01 % розчином НЧС. У першій фазі ранового процесу після заливки ранової порожнини 0,01 % розчином НЧС рани аналогічно обробляли низькочастотним УЗ (апарат УРСК 7Н–22) та накладали стерильні марлеві пов'язки, змочені 0,02 % розчином НЧС.

У контрольних групах рани промивали 0,05 % розчином Хлоргексидину та накладали стерильні марлеві пов'язки, змочені 0,05 % розчином Хлоргексидину (виробник: ПП "Кілафф", Україна; номер реєстраційного посвідчення: UA/5492/01/01; термін дії посвідчення: необмежений, з 19.05.2017; АТ код: D08AC02; наказ МОЗ № 2362 від 18.12.2018р.). 0,05 % розчин Хлоргексидину рекомендований ВОЗ та МОЗ України як антисептик в переліку основних лікарських засобів [262, 263].

Протягом усього періоду дослідження тварин оглядали та реєстрували такі параметри перебігу ранового процесу: відсоток та терміни відторгнення некротичних тканин, появи грануляцій та крайової епітелізації, терміни повного загоєння.

Тварини виводили з експерименту на 1-шу, 3-ю, 7-му, 14-у та 21-шу добу з моменту утворення гнійних ран шляхом передозування наркозу (7 мг на 100 г маси) з наступною декапітацією.

#### **2.4.1 Планіметричне дослідження ранових поверхонь**

З метою об'єктивної оцінки перебігу регенераційних процесів та вивчення динаміки загоєння виконувалось вимірювання площі ранових поверхонь за допомогою програмного забезпечення ImageJ 1.46r, яке знаходиться у вільному доступі (<https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide>). Ранові дефекти фотографували на 1-шу, 3-тю, 7-му, 14-у та 21-у добу експерименту фотокамерою Nikon D5100. Для підрахунку площі ранових поверхонь

використовували їх цифрове зображення разом із заданим еталоном – лінійкою (градація 1 мм). Також підраховували відсоток некротичних ділянок, грануляцій та ділянок епітелізації. Відсоток зменшення площі ранових поверхонь (ЗПР) за 1 добу підраховували використовуючи формулу:

$$\text{ЗПР} = (S - S_n) \times 100 / S \times t;$$

де  $S$  – площа рани при попередньому вимірюванні,  $S_n$  – площа рани у даний момент,  $t$  – кількість днів між першим і наступним вимірюванням.

Середню швидкість зменшення ранових поверхонь (СерШЗРП,  $\text{см}^2/\text{добу}$ ) визначали за формулою:

$$V = (S - S_n) / t;$$

де  $S$  – площа рани при попередньому вимірюванні,  $S_n$  – площа рани у даний момент,  $t$  – кількість днів між першим і наступним вимірюванням.

#### **2.4.2 Вивчення якісного та кількісного складу мікрофлори ранових поверхонь**

Забір гнійного вмісту ран виконували за допомогою пробірок з середовищем Amies, та сіяли на різні поживні середовища за методом секторних посівів: середовище Ендо, жовтково-сольовий агар, та середовище «Псевдомонас АПС-20», інкубували в термостаті протягом 24 год при температурі 37 °С та підраховували кількість колоній. Виділення та ідентифікацію *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa* виконували згідно з наказом № 535 від 22.04.1985 р. [256].

Динаміку мікробного обсіменіння проводили на 1-шу, 3-тю, 7-му, 10-у, 14-у та 21-у добу експерименту.

#### **2.4.3 Гістологічне дослідження ранових поверхонь**

З метою вивчення морфологічних особливостей перебігу гнійного ранового процесу виконувалися гістологічні дослідження тканин ранового

дефекту. Забір матеріалу для гістологічного дослідження гострих гнійних ран здійснювали на 1-шу, 3-ю, 7-у та 14-у добу експерименту, гнійних ран, що тривало не загоюються – на 1-шу, 3-ю, 7-у, 14-у та 21-шу добу. Отриманий матеріал фіксували у 10 % розчині забуференого нейтрального формаліну протягом 24 годин, зневоднювали в серії розчинів етилового спирту висхідної концентрації та заливали в парафінові блоки. За допомогою ротаційного мікротому робили серійні зрізи товщиною 3-5 мкм та фарбували гематоксиліном-еозином за стандартною методикою. Гістологічні зразки та їх морфометричні показники досліджували на світловому мікроскопі «Carl Zeiss Primo Star» (Німеччина) (біноккуляр × 10, об'єктив × 20) з цифровою камерою «Zeiss Axio Cam ERs 5s» (Німеччина) та програмним забезпеченням «ZEN 2 (blue edition)» (Німеччина) з цифровим мікрометром.

При оцінці гістологічних зрізів звертали увагу на терміни очищення рани, інтенсивність запального процесу, розлади кровообігу, особливості ангіонеогенезу, терміни появи грануляційної тканини та крайової епітелізації, досліджували клітинний склад тканин а також підраховували наступні морфометричні показники: відносну площу стромального набряку (ВПСН), відносну площу судин дерми (ВПСД) та відносну площу грануляційної тканини (ВПГТ).

#### **2.4.4 Цитологічне дослідження ранових поверхонь**

Цитологічне дослідження проводилось за методикою М. П. Покровської та М. С. Макарова у модифікації Д. М. Штейнберга. Забір матеріалу здійснювали методом «мазків-відбитків». Отримання мазків-відбитків від кожної піддослідної тварини серії гострих гнійних ран здійснювали на 1-шу, 3-ю, 7-у та 14-у добу експерименту, гнійних ран, що тривало не загоюються – на 1-шу, 3-ю, 7-у, 14-у та 21-шу добу. Мазки висушували, фіксували протягом 5 хв у метиловому спирті та фарбували за Романовським-Гімзою. Цитограми досліджували під світловим мікроскопом

Nikon E 100 (бінокляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 100$ ), фотографування здійснювали фотокамерою Nikon D5100.

Усього було досліджено 198 цитограм. Оцінювали наступні показники: клітинний склад мазків-відбитків, відсоткове співвідношення клітинних елементів (нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів, макрофагів, полібластів, фібробластів, ендотеліоцитів), наявність деструкції нейтрофілів, розташування мікроорганізмів (внутрішньо- і позаклітинно), зміни клітинного складу в динаміці. Підрахунок клітин вели в 12-15 полях зору з визначенням середнього арифметичного. З метою визначення типів цитограм використовували класифікацію Б. М. Даценко [264]: виділяли некротичні, дегенеративно-запальні, запальні, запально-регенеративні, регенеративно-запальні та регенеративні типи цитограм. Визначали регенеративно-дегенеративний індекс (РДІ) за формулою:

$$\text{РДІ} = \frac{\text{НФН}}{\text{ДФН}},$$

де НФН – кількість незмінених форм нейтрофілів у полі зору, ДФН – кількість дегенеративних форм нейтрофілів у полі зору.

Показник  $\text{РДІ} < 1$  свідчив за переважання запальних процесів у рані, а показник  $\text{РДІ} > 1$  – за переважання регенеративних процесів.

#### **2.4.5 Вивчення резорбтивної дії НЧС**

Дослідження полягало в визначенні концентрації іонів срібла в нативній крові експериментальних тварин у підгрупах «НЧС» та «НЧС/УЗ». Вимірювання проводили методом атомно-абсорбційної спектрометрії на атомно-абсорбційному комплексі КАС-120.1 (АТ “Selmi”, м. Суми, Україна) зі спектрофотометром С-115-М1 та приставкою “Графіт-2” з комп'ютерною реєстрацією аналітичного сигналу. Спектрофотометр С-115-М1 застосовувався з наступними технічними характеристиками: спектральний діапазон вимірювань 190-900 нм, спектральний дозвіл не більш 0,1 нм,

діапазон вимірювання оптичної щільності 0-2000 мВ, діапазон вимірювання масової концентрації 10-100  $C_{\text{хар}}$ , характеристична концентрація для срібла 0,025 мг/л, межа виявлення для срібла 0,006 мг/л, абсолютна похибка вимірювання поглинання не більш ніж 0,01 [265].

У серії гострих гнійних ран дослідження проводили на 3-ю, 7-у та 14-у добу експерименту; у серії гнійних ран, що тривало не загоюються – на 3-ю, 7-у, 14-ту та 21-у добу. Окремо визначали концентрацію срібла в крові контрольних груп без застосування НЧС.

#### **2.4.6 Визначення вмісту срібла в тканинах гнійних ран щурів після застосування НЧС та НЧС/УЗ**

Енергодисперсійну рентгенівську спектрометрію та растрову електронну мікроскопію матеріалу гнійних ран виконували на скануючому електронному мікроскопі SEO-SEM Inspect S50-B (прискорююча напруга 10 кВт) з енергодисперсійним спектрометром AZtecOne з детектором X-MaxN20 (виробник Oxford Instruments plc, Великобританія). Фіксацію відібраних зразків проводили протягом 1 год в 2,5 % глутаральдегіді на 0,1 М фосфатному буфері з рН 7,2. Далі зразки двічі витримували у фосфатному буфері протягом 30 хв для видалення фіксатора та зневоднювали у спиртах висхідної концентрації від 30 % до 100 %. Поперечні зрізи отримували з попередньо замороженої тканини у рідкому азоті. Відібрані зразки були висушені при кімнатній температурі до постійної ваги, після чого напилені графітом з метою надання їхній поверхні провідності. Масовий відсоток срібла  $w(\text{Ag})\%$  у товщі ран на поперечних зрізах визначали елементним аналізом в точках з інтервалами 10 мкм від поверхні ран, а також на трьох ділянках площею 4,0 мм<sup>2</sup>, починаючи від поверхні ран (ділянка 1) з інтервалом 25,0 мкм (ділянки 2 та 3). Для серії гострих гнійних ран дослідження проводили на 3-ю, 7-у та 14-у добу експерименту; для ран, що тривало не загоюються – на 3-ю, 7-у, 14-ту та 21-у добу.

## 2.5 Статистична обробка результатів дослідження

Статистичний аналіз отриманих результатів та визначення достовірності відмінностей між трьома та чотирма групами проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з декількома порівняннями на програмному забезпеченні GraphPad Prism 8.0. Визначення достовірності відмінностей між двома групами проводили із використанням параметричного критерію Стьюдента (t). Отримані дані у роботі представлені у вигляді середньої арифметичної (M) та середнього квадратичного відхилення (SD). Перевірку величин на нормальність розподілу проводили із застосуванням критерію Колмогорова-Смірнова. Статистично значущими вважали дані при  $p < 0,05$ .

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1 Антимікробні властивості розчину НЧС, УЗ та їх поєднаного застосування

Антибактеріальні властивості НЧС визначали по відношенню до клінічних ізолятів грампозитивних (*S. aureus*, *S. pyogenes*), грамнегативних (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*) бактерій та грибів *C. albicans*. МІК та МБК розчинів НЧС наведені на рис. 3.1. На основі отриманих результатів можна стверджувати, що НЧС демонструють майже однакову антибактеріальну активність як відносно грампозитивних так і відносно грамнегативних мікроорганізмів. Ріст *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes* пригнічувався при МІК 12,5 мкг/мл, а *S. aureus*, *P. vulgaris* та *C. albicans* за МІК 25 мкг/мл. Отримані результати МБК свідчать, що НЧС спричинювали загибель досліджуваних мікроорганізмів при концентрації НЧС 12,5 – 50 мкг/мл.

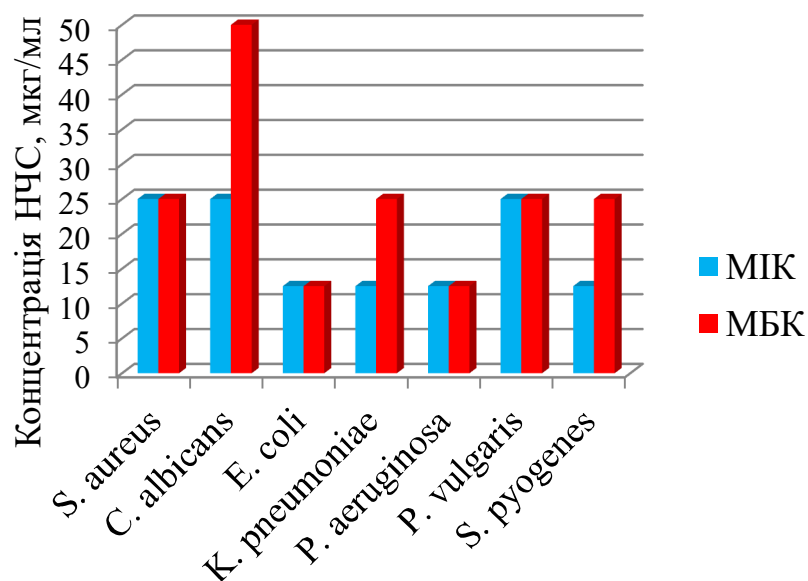


Рис. 3.1 – МІК та МБК розчину НЧС по відношенню до клінічних ізолятів мікроорганізмів

Поєднане застосування НЧС та низькочастотного УЗ призводить до стрімкого зниження МІК (0,012 – 0,78 мкг/мл) та МБК (0,1 – 1,6 мкг/мл), (рис. 3.2). Найбільшу активність НЧС виявляли проти *C. albicans* (МІК: 0,012 мкг/мл), *S. aureus* (МІК: 0,05 мкг/мл) та *P. aeruginosa* (МІК: 0,05 мкг/мл).

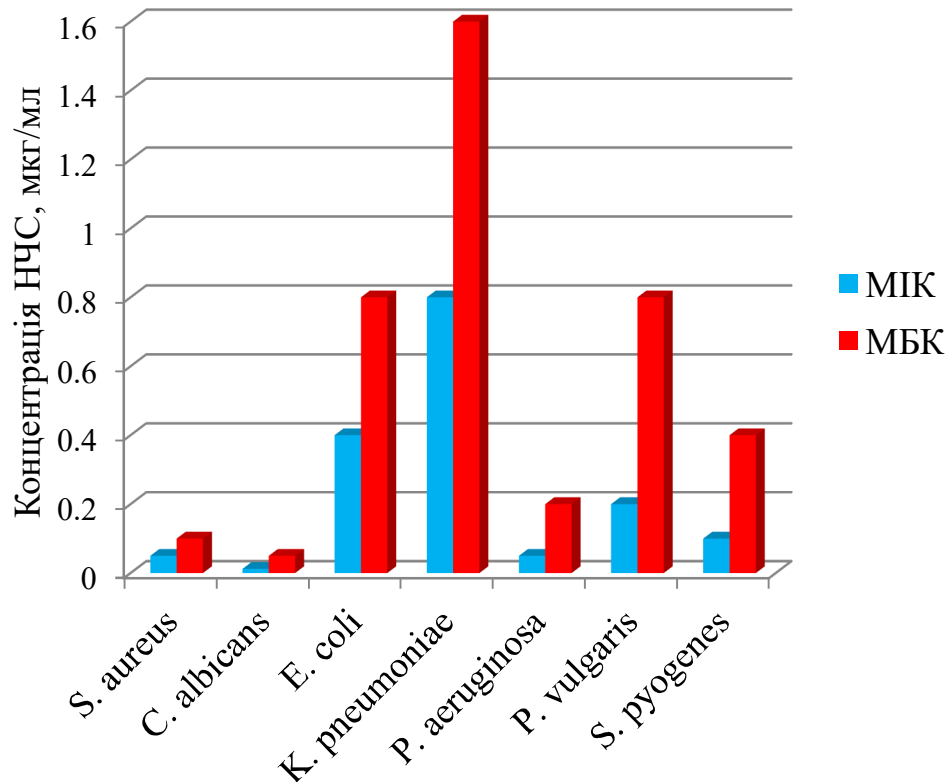


Рис. 3.2 – МІК та МБК розчину НЧС у поєднанні з низькочастотним УЗ по відношенню до клінічних ізолятів мікроорганізмів

Обробка мікроорганізмів лише низькочастотним УЗ протягом 2 хв не викликала пригнічення росту досліджуваних мікроорганізмів.

Отримані дані свідчать про значне зменшення МІК та МБК НЧС при поєднаному застосуванні НЧС та УЗ, що вказує на їх взаємопотенціуючу дію.

Повноцінна оцінка антибактеріальної активності передбачає динамічну інтерпретацію взаємодії антимікробного агенту та бактерій. Розуміння



швидкості елімінації збудників має значення при застосуванні НЧС *in vivo*. Для кожного окремого мікроорганізму побудована кінетична крива, що відображає значення десяткового логарифму кількості КУО за певний проміжок часу. Початкова концентрація всіх мікроорганізмів становила:  $\log(5 \times 10^5) = 5,7 \log_{10}$ . Графік динаміки зміни кількості мікрофлори (рис. 3.3) показує, наскільки швидко НЧС можуть знешкоджувати різні типи мікроорганізмів. Більшість мікроорганізмів було знешкоджено через 24 год, однак найбільш виражену швидку антимікробну дію НЧС демонстрували проти *S. aureus*, який був знешкоджений через 1 год, та *C. albicans* (через 3 год).

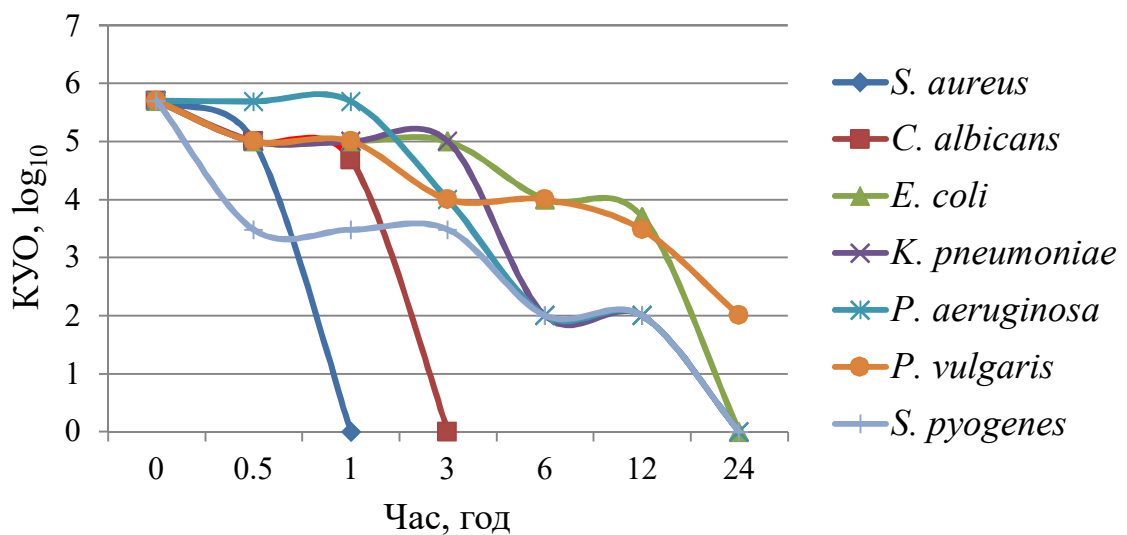


Рис. 3.3 – Час-залежна антимікробна активність НЧС відносно клінічних ізолятів

Як видно з графіка (рис. 3.4), після обробки мікроорганізмів УЗ кількість КУО більшості досліджуваних штамів (окрім *S. aureus* та *C. albicans*) була менша початкової, що вказує на наявність різної антибактеріальної дії УЗ для кожного окремого мікроорганізму. Однак для створення повного бактерицидного ефекту цього недостатньо, оскільки, з часом, кількість КУО зростає та перевищує початкову їх кількість.

Антибактеріальний ефект після застосування УЗ найдовше зберігається у *P. vulgaris* та *S. pyogenes* і триває протягом 6 год.

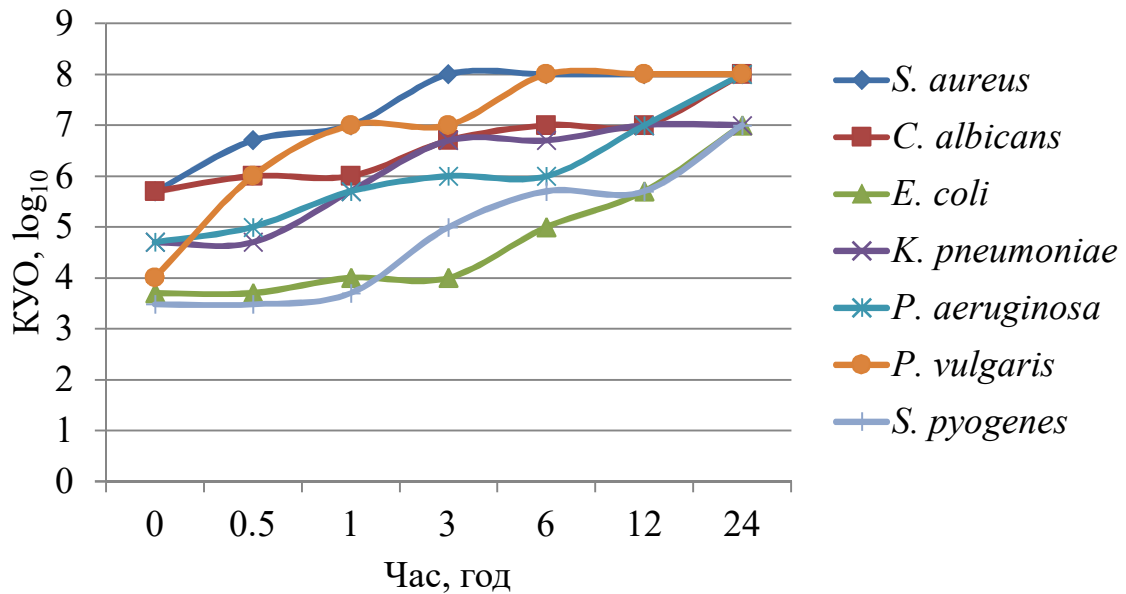


Рис. 3.4 – Час-залежна антимікробна активність УЗ

Результати, отримані після поєднаного застосування низькочастотного УЗ та НЧС свідчать, що динаміка зменшення кількості КУО у різних мікроорганізмів істотно відрізнялась (рис. 3.5). Оскільки концентрація НЧС була однаковою (1 МБК), можна припустити, що даний ефект пов'язаний з різним ступенем чутливості мікроорганізмів до УЗ, а кінцевий результат – з різною синергідністю антимікробного впливу НЧС та УЗ.

При поєднаному застосуванні НЧС та УЗ (рис. 3.5) через 3 год більшість видів досліджуваних мікроорганізмів (*S. pyogenes*, *P. vulgaris*, *C. albicans*, *E. coli*) було знешкоджено, у той час як при застосуванні лише НЧС в аналогічний проміжок часу загинуло 2 види мікроорганізмів (*S. aureus* та *C. albicans*). Найбільшу швидку антибактеріальну активність НЧС разом з УЗ виявили проти *S. pyogenes* та *P. vulgaris*, які були знешкоджені через 1 год.

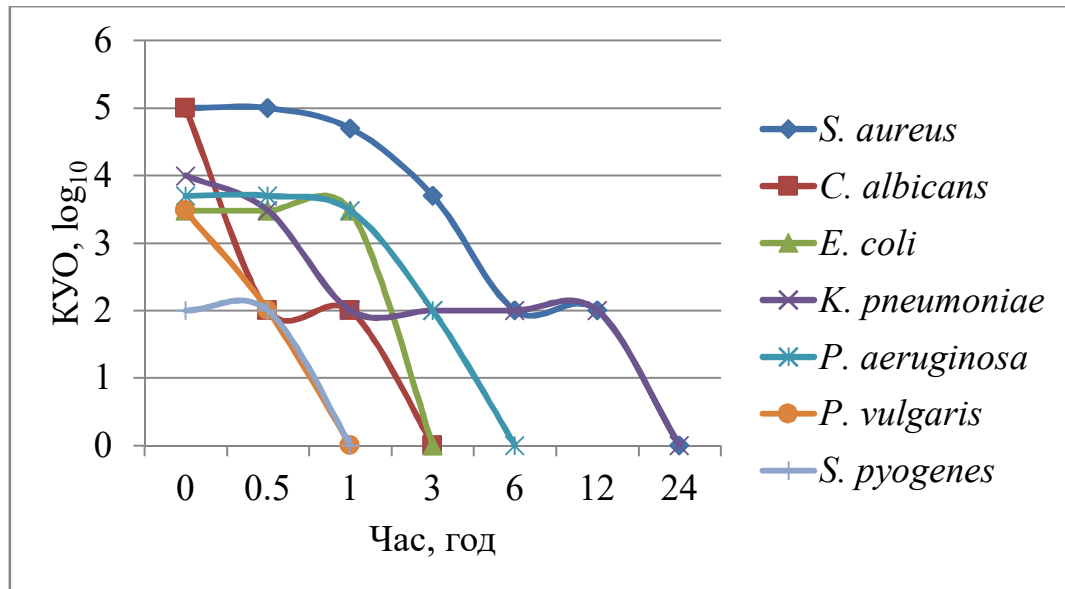


Рис. 3.5 – Час-залежна антимікробна активність НЧС у поєднанні з низькочастотним УЗ

Отримані результати свідчать, що динаміка зменшення кількості мікроорганізмів була швидшою при одночасному застосуванні НЧС та УЗ.

На першу добу експерименту НЧС виявили антибіоплівкову активність в концентраціях, еквівалентних 20 МІК по відношенню до всіх мікроорганізмів, окрім *S. aureus* (рис. 3.6). При концентраціях НЧС, що дорівнюють 10 МІК, все ще спостерігався незначний відсоток редукції у *K. pneumoniae* ( $5,4 \pm 3,6\%$ ), *P. aeruginosa* ( $6,6 \pm 3,1\%$ ) та *P. vulgaris* ( $10,8 \pm 4,9\%$ ), що говорить про недостатність відповідних концентрації для повної загибелі біоплівок мікроорганізмів.

На 3-тю добу спостереження, незважаючи на поступове зменшення відсотку редукції, не виявлено жодного збудника, біоплівки якого загинули б при концентрації НЧС, еквівалентній 20 МІК (рис. 3.6).

На 7-му добу спостереження відсоток редукції Alamar Blue в лунках з *S. aureus*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* та *C. albicans* при концентраціях НЧС, еквівалентних 20 МІК, був рівний 0 %, що свідчить про більшу вразливість біоплівок мікроорганізмів до НЧС, порівняно з 3-ою добою (рис. 3.6).

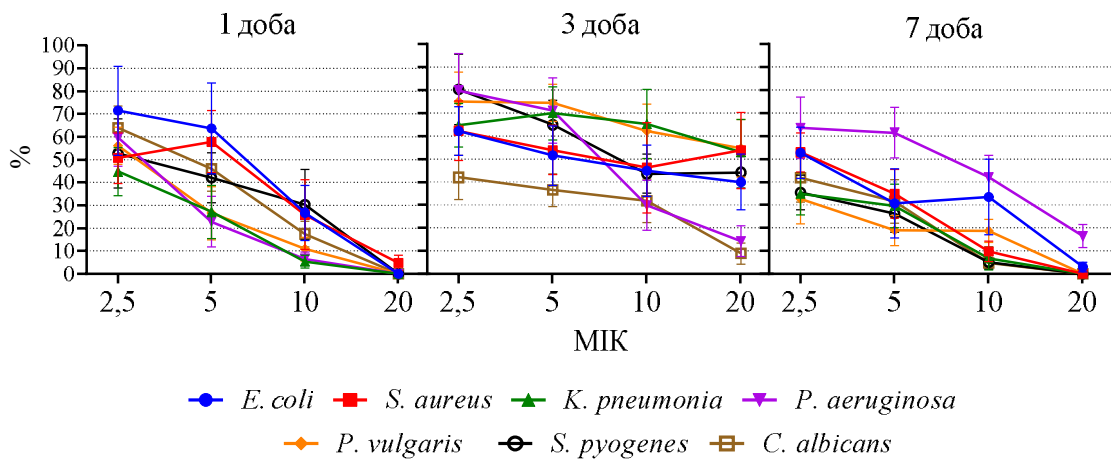


Рис. 3.6 Антибіоплівкова активність НЧС, % редукції Alamar Blue

На першу добу експерименту (рис. 3.7) при поєднаному застосуванні НЧС та низькочастотного УЗ спостерігалась значно краща антибіоплівкова активність НЧС: не було виявлено жодних біоплівок при концентраціях НЧС, еквівалентних 20 МІК. При концентраціях в 10 МІК спостерігалась незначна редукція Alamar Blue у *K. pneumoniae* ( $1,9 \pm 0,8$  %) та *C. albicans* ( $0,8 \pm 0,4$  %).

На 3-тю добу при поєднаному застосуванні більшість лунок з біоплівками мікроорганізмів (окрім *P. vulgaris*) при концентраціях НЧС, еквівалентних 10 МІК, мала відсоток редукції 0 %, що вказує на відсутність метаболічної активності, однак при концентраціях НЧС в 2,5 та 5 МІК позитивний відсоток редукції Alamar Blue був характерний для біоплівок всіх мікроорганізмів (рис. 3.7).

На 7-му добу при концентраціях НЧС, еквівалентних 2,5 МІК, у поєднанні з низькочастотним УЗ активність біоплівок *K. pneumoniae* (0 %) та *P. vulgaris* (0 %) не визначалась, а при концентраціях НЧС, еквівалентних 10 МІК, метаболічна активність біоплівок була відсутньою у всіх досліджуваних мікроорганізмах (рис. 3.7).

Застосування низькочастотного УЗ без НЧС протягом експерименту не вплинуло на зміну відсотка редукції Alamar Blue порівняно з позитивним контролем.

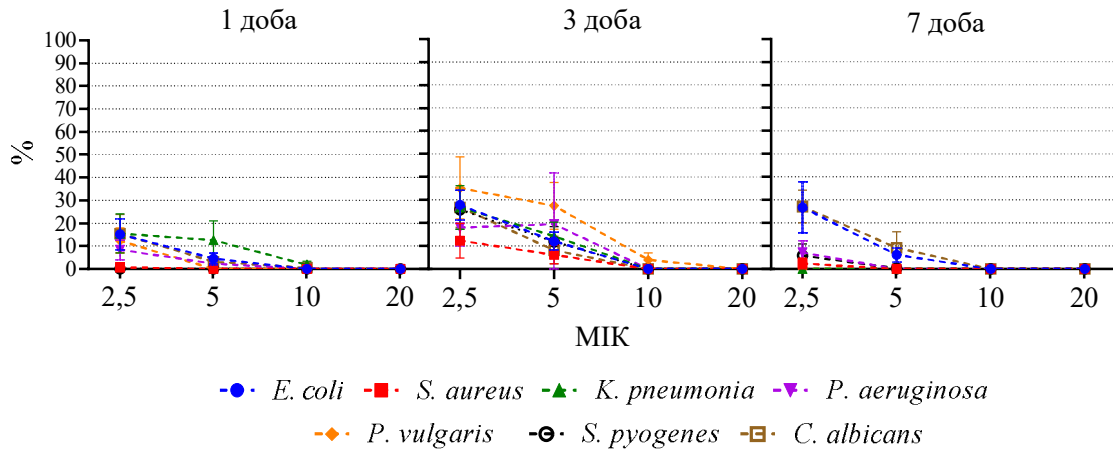


Рис. 3.7 Антибіоплівкова активність поєднаного застосування НЧС та низькочастотного УЗ, % редукції Alamar Blue

Отже, отримані результати свідчать про кращу антибіоплівкову активність поєднаного застосування НЧС та низькочастотного УЗ, порівняно з НЧС, що дає змогу використовувати НЧС в значно менших концентраціях для досягнення кращого результату в боротьбі з біоплівками.

### 3.2 Цитотоксичність розчину НЧС

Результати дослідження цитотоксичності НЧС по відношенню до дермальних фібробластів свідчать за наявність дозозалежного ефекту. Застосування НЧС у концентраціях 0,4-1,6 мкг/мл через 24 год показало позитивну, майже однакову, динаміку проліферації дермальних фібробластів, однак збільшення концентрації НЧС удвічі з 1,6 мкг/мл до 3,2 мкг/мл призвело до майже удвічі меншої проліферативної активності фібробластів (42,7 % та 20,2 %, відповідно,  $p < 0,05$ ), (рис. 3.8). Через 72 год НЧС у концентрації 1,6 мкг/мл знизили проліферацію фібробластів майже в 1,5 рази (з 85,3 % до 54,4 %) порівняно з позитивним контролем ( $p < 0,05$ ), однак збільшення концентрації НЧС вдвічі з 1,6 мкг/мл до 3,2 мкг/мл призвело до відсутності відсотка редукції Alamar Blue (рис. 3.8), що свідчить за

цитотоксичність НЧС. НЧС у концентрації 6,4 мкг/мл виявилися абсолютно токсичними через 24 та 72 год (рис. 3.8).

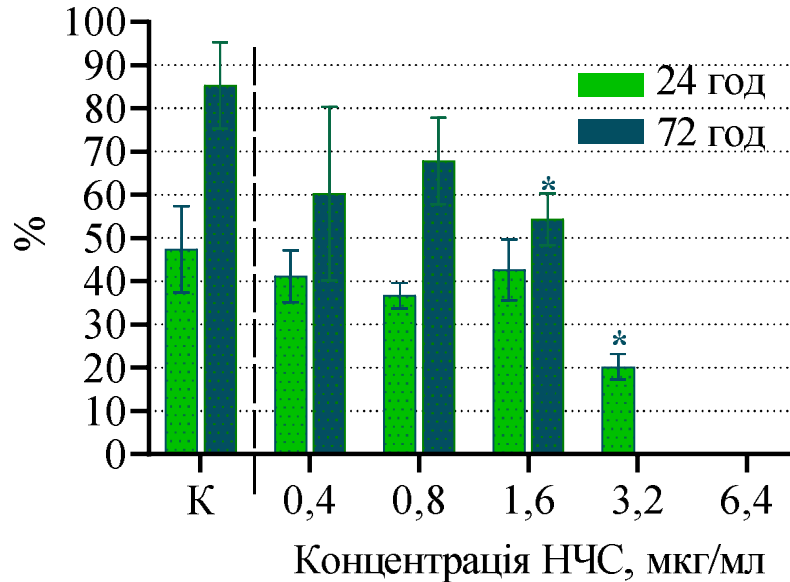


Рис. 3.8 – Цитотоксичність розчину НЧС відносно дермальних фібробластів через 24 та 72 год культивування. К – позитивний контроль, \* – достовірна різниця у порівнянні з позитивним контролем ( $p < 0,05$ ).

Світлова мікроскопія через 24 год демонструвала ріст клітин зі звичайною морфологією у середовищі з концентрацією НЧС 0,8 мкг/мл (рис. 3.9). Деякі загиблі фібробласти траплялись при концентраціях НЧС 1,6 мкг/мл та 3,2 мкг/мл, але жодних живих клітин не спостерігалось при 6,4 мкг/мл (рис. 3.9).

Світлова мікроскопія через 72 год демонструвала ріст клітин зі звичайною морфологією у розчинах з концентраціями НЧС 0,4 мкг/мл та 0,8 мкг/мл (рис. 3.10). Деякі загиблі фібробласти траплялись при концентрації НЧС 1,6 мкг/мл і жодних живих клітин не спостерігалось при 3,2 мкг/мл (рис. 3.10).

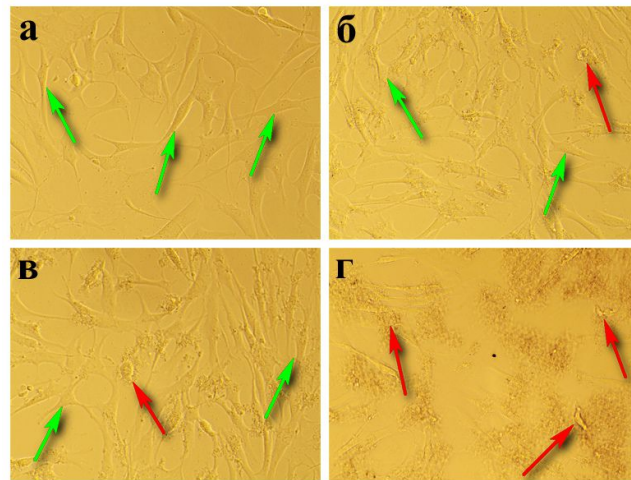




Рис. 3.9 – Світлова мікроскопія дермальних фібробластів через 24 год після сумісного культивування з розчинами НЧС (а – 0,8 мкг/мл, б – 1,6 мкг/мл, в – 3,2 мкг/мл, г – 6,4 мкг/мл). Збільшення  $\times 100$ .  – живі фібробласти,  – загиблі фібробласти

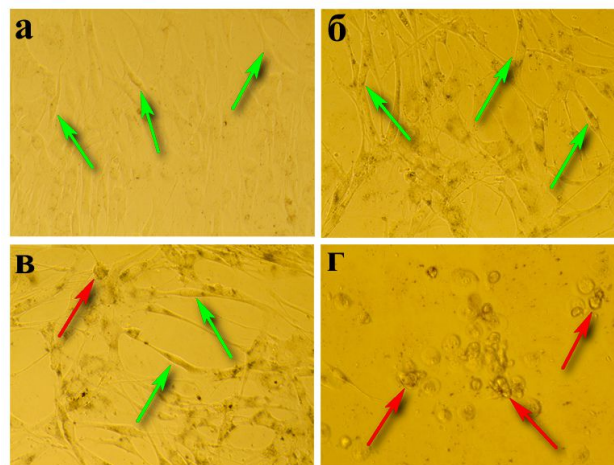




Рис. 3.10 – Світлова мікроскопія дермальних фібробластів через 72 год після сумісного культивування з розчинами НЧС (а – 0,4 мкг/мл, б – 0,8 мкг/мл, в – 1,6 мкг/мл, г – 3,2 мкг/мл). Збільшення  $\times 100$ .  – живі фібробласти,  – загиблі фібробласти

Отримані дані свідчать, що абсолютна цитотоксична дія НЧС спостерігалася через 72 год при концентраціях, починаючи від 3,2 мкг/мл, а через 24 год – при концентраціях НЧС від 6,4 мкг/мл.

### 3.3 Особливості планіметричних показників гнійних ран в експериментальних та контрольних групах

#### 3.3.1 Особливості планіметричних показників гострих гнійних ран

Оцінка розміру та характеру ран показала, що на першу добу в усіх групах тварин площа ранових дефектів на 1-шу добу була майже однаковою та коливалася в межах  $1,42 \pm 0,02 - 1,43 \pm 0,02 \text{ см}^2$  (рис. 3.11). Відносна площа некрозу у всіх групах знаходилась в межах  $55,5 \pm 1,4 - 57,2 \pm 1,8 \%$  та достовірно не відрізнялась ( $p > 0,05$ ), (рис. 3.12).

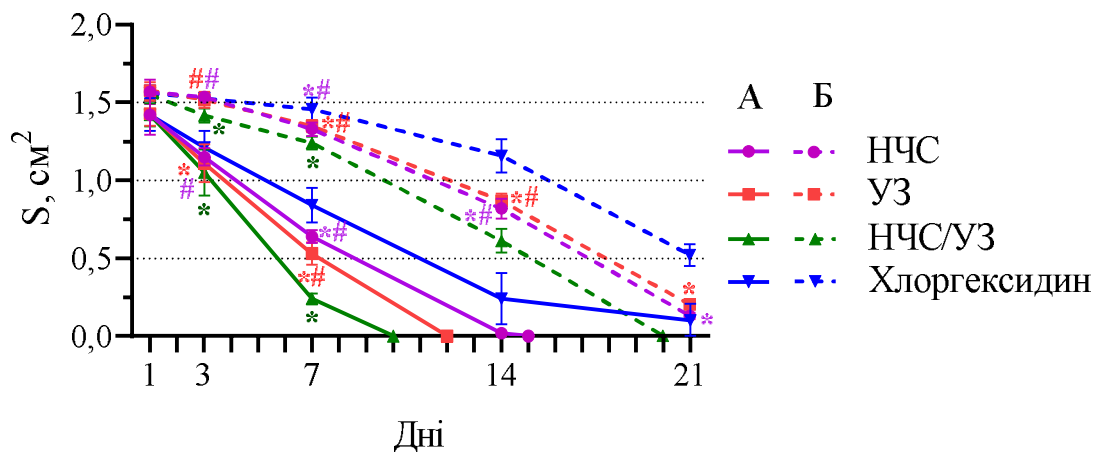


Рис. 3.11 – Динаміка зміни площі поверхні гострих гнійних ран (А) та гнійних ран, що тривало не загоюються (Б) у контрольних та експериментальних групах ( $S, \text{см}^2$ ). \* – достовірна різниця у порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

На 3-тю добу відмічалася незначне зменшення площі ран у всіх досліджуваних групах, що вказувало на початок регенеративних процесів (рис. 3.11). Однак найкращий показник був у підгрупі НЧС/УЗ –  $1,05 \pm 0,03 \text{ см}^2$ , що на 26,1 % менше ніж на 1-шу добу і є достовірно ( $p < 0,0001$ ) меншим, ніж у контрольній групі ( $1,21 \pm 0,02 \text{ см}^2$ ). Площі ран у



підгрупі НЧС були достовірно ( $p < 0,05$ ) більшими ( $1,15 \pm 0,01 \text{ см}^2$ ) ніж у підгрупі НЧС/УЗ, але не мали достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) з контрольною групою, що свідчить за повільніші темпи загоєння. Достовірної різниці між підгрупами УЗ та НЧС/УЗ на третю добу не було виявлено ( $p > 0,05$ ), проте підгрупа УЗ ( $1,05 \pm 0,03 \text{ см}^2$ ) мала достовірно ( $p < 0,05$ ) кращі результати, ніж група контролю (рис. 3.11).

Дослідження планіметричних показників гострого ранового процесу контрольної та експериментальної груп виявило, що у підгрупі НЧС/УЗ відбулося повне очищення ран від гнійно-некротичних тканин (на  $2,5 \pm 0,01$  добу). Відсоток площі некрозу у підгрупах УЗ ( $32,42 \pm 1,4 \%$ ) та НЧС ( $38,2 \pm 3,0 \%$ ) був достовірно ( $p < 0,05$ ) меншим, ніж у групі контролю ( $46,7 \pm 1,0 \%$ ) (рис. 3.12). На відміну від інших підгруп, у підгрупі НЧС/УЗ вже з  $2,3 \pm 0,02$  доби спостерігались ділянки грануляційної тканини ( $20,3 \pm 1,7 \%$  на 3-тю добу) (рис. 3.12).

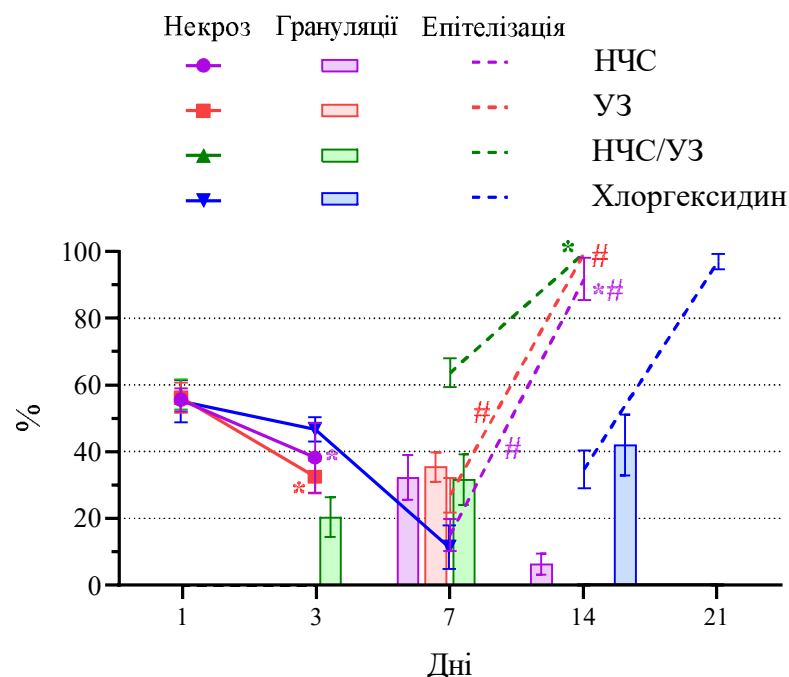


Рис. 3.12 – Динаміка планіметричних показників гострого гнійного ранового процесу. \* – достовірна різниця у порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

Відсоток ЗПР за одну добу в період з 1-ої по 3-ю добу виявився найбільшим у підгрупі НЧС/УЗ та становив 13,03 %; у підгрупі УЗ – 11,19 %, у підгрупі НЧС – 9,5 %, та в групі контролю – 7,39 % (рис. 3.13).

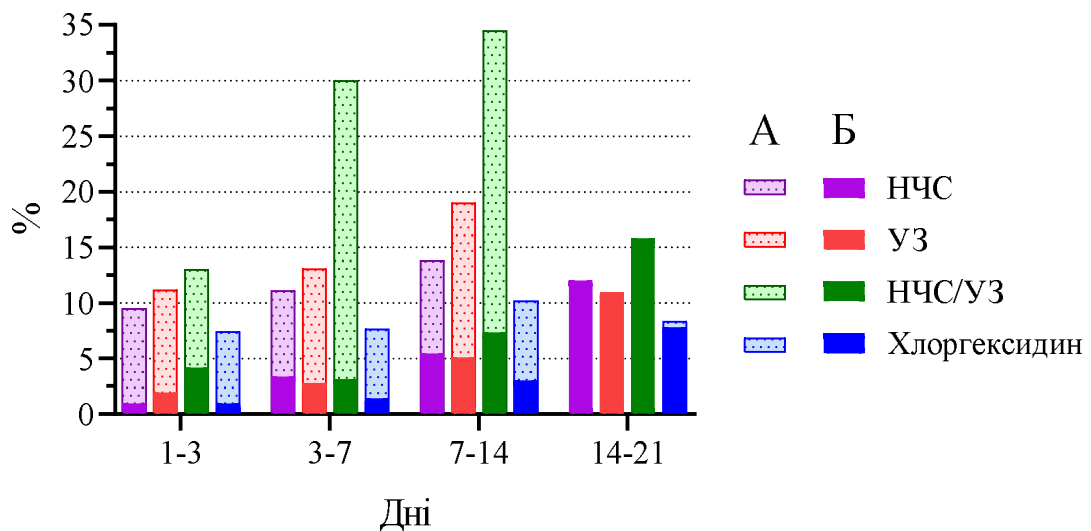


Рис. 3.13 – Показники ЗПР за 1 добу при гострому гнійному рановому процесі (А) та при гнійних ранах, що тривалий час не загоюються (Б), %

На 7-му добу експерименту площа ран у підгрупі НЧС/УЗ достовірно ( $p < 0,0001$ ) відрізнялася від контрольної групи ( $0,84 \pm 0,03 \text{ см}^2$ ), підгрупи НЧС ( $0,64 \pm 0,01 \text{ см}^2$ ) та УЗ ( $0,53 \pm 0,02 \text{ см}^2$ ) і становила  $0,24 \pm 0,01 \text{ см}^2$ , що вказує на більш інтенсивні процеси регенерації (рис. 3.11). Площі ранових дефектів у підгрупах НЧС та УЗ також були істотно ( $p < 0,0001$ ) меншими у порівнянні з групою Хлоргексидину, що теж говорить про швидші репаративні процеси.

Ділянки некрозу залишалися лише в групі контролю ( $11,3 \pm 1,9 \%$ ), у той час як грануляційна тканина та епітелізація ще були відсутні. Повне очищення ран від некротичних тканин при стандартному лікуванні настало через  $7,1 \pm 0,01$  діб, тоді як у підгрупах НЧС – на  $5,2 \pm 0,02$  добу, УЗ – на  $4,1 \pm 0,01$  добу ( $p < 0,0001$ ), (рис. 3.12). Відсоток грануляційної тканини поміж експериментальних підгруп не мав достовірних відмінностей ( $p > 0,05$ )

(рис. 3.12), але терміни їх появи достовірно відрізнялися: НЧС –  $5,8 \pm 0,03$  діб, УЗ –  $4,2 \pm 0,01$  доби, та НЧС/УЗ –  $2,3 \pm 0,02$  доби ( $p < 0,0001$ ). Інтенсивність процесу епітелізації була найвищою у підгрупі НЧС/УЗ –  $64,1 \pm 1,3$  % від загальної площі дефекту, у той час як у підгрупі НЧС –  $27,33 \pm 1,5$  % та УЗ –  $15,42 \pm 1,4$  % (рис. 3.12). Перші прояви епітелізації в підгрупах НЧС та УЗ з'явилися майже одночасно (на  $6,5 \pm 0,03$  та  $6,1 \pm 0,02$  добу відповідно), що достовірно ( $p < 0,0001$ ) різнилося порівняно з підгрупою НЧС/УЗ ( $4,1 \pm 0,01$  доби) та підгрупою із застосуванням Хлоргексидину ( $8,6 \pm 0,02$  діб).

Відсоток ЗПР за одну добу в період з 3-ої по 7-му добу експерименту був найвищим у підгрупі НЧС/УЗ (30,0 %) порівняно з підгрупою УЗ (13,06 %), НЧС (11,09 %) та контрольною групою (7,64 %) (рис. 3.13).

Повне закриття ранових дефектів у підгрупі НЧС/УЗ відбулося на  $9,9 \pm 0,5$  добу, УЗ – на  $12,1 \pm 0,1$  добу, на відміну від контрольної групи та підгрупи НЧС, у яких залишалися дефекти  $0,24 \pm 0,05$  см<sup>2</sup> та  $0,02 \pm 0,01$  см<sup>2</sup> з достовірною різницею  $p < 0,0001$  (рис. 3.11). На 14-ту добу в групі з Хлоргексидином відмічався значний відсоток грануляційної тканини ( $41,9 \pm 2,6$  %, рис. 3.12), початок утворення якої припадає на  $7,4 \pm 0,2$  добу. Зменшення відсотка грануляцій у підгрупі НЧС ( $6,3 \pm 0,9$ %) відбувається за рахунок перетворення її в сполучнотканинну основу. Крайова епітелізація в групі контролю на 14 добу становила  $35,2 \pm 1,6$ % від загальної площі ранових дефектів, у той час як у підгрупі НЧС епітелізація майже завершилась ( $92,3 \pm 1,8$  %, рис. 3.12).

Відсоток ЗПР за одну добу в період з 7-ої по 14 добу був найвищим у підгрупі НЧС/УЗ – 34,48 %, порівняно з підгрупою УЗ (19,0 %), НЧС (13,84 %), та групою контролю (10,2 %, рис. 3.13).

На 21-шу добу спостерігали майже повне закриття дефекту в контрольній групі –  $0,1 \pm 0,05$  см<sup>2</sup> (рис. 3.11) з відсотком епітелізації  $97,5 \pm 0,7$ % (рис. 3.12). Ранові дефекти в підгрупі НЧС остаточно загоїлися на  $15,0 \pm 0,6$  добу, що на 6,2 діб швидше, ніж у групі Хлоргексидину

( $21,2 \pm 0,7$  доба). Відсоток ЗПР за одну добу в період з 14-ої по 21-шу добу для контрольної групи становив 8,33 % (рис. 3.13).

Показник СерШЗРП за весь період був найкращий у підгрупі НЧС/УЗ –  $0,14 \text{ см}^2/\text{добу}$ . СерШЗРП у підгрупі НЧС –  $0,1 \text{ см}^2/\text{добу}$ , в підгрупі УЗ –  $0,12 \text{ см}^2/\text{добу}$  та в групі контролю –  $0,07 \text{ см}^2/\text{добу}$ .

Отримані дані свідчать, що швидкість загоєння ран за всіма параметрами перебігу ранового процесу, такими як відторгнення некрозу, поява грануляцій та епітелізації, ЗПР, СерШЗРП, були кращими у підгрупі НЧС/УЗ, порівняно з підгрупами, де застосовувалось традиційне лікування та монотерапія НЧС чи УЗ. У свою чергу застосування НЧС або УЗ мало переваги перед використанням Хлоргексидину.

### **3.3.2 Особливості планіметричних показників гнійних ран, що тривало не загоюються**

На першу добу у всіх групах площа ранових дефектів була майже однаковою та коливалася в межах  $1,55 \pm 0,01 - 1,58 \pm 0,02 \text{ см}^2$  (рис. 3.11). Відносна площа некрозу у всіх групах знаходилась в межах  $70,3 \pm 4,2 - 73,5 \pm 3,6 \%$  та достовірно не відрізнялася ( $p > 0,05$ ).

На 3-тю добу відмічалось незначне зменшення площі ран у всіх досліджуваних групах, що вказувало на початок регенеративних процесів (рис. 3.11). Найкращий показник був у підгрупі НЧС/УЗ –  $1,42 \pm 0,02 \text{ см}^2$ , що на 8,4 % менше, ніж на 1-шу добу, і є достовірно ( $p = 0,0006$ ) меншим, ніж в контрольній групі ( $1,53 \pm 0,01 \text{ см}^2$ , рис. 3.11). Площі ран у підгрупі НЧС були достовірно ( $p = 0,0004$ ) більшими ( $1,54 \pm 0,01 \text{ см}^2$ ), ніж у підгрупі НЧС/УЗ, та не мали достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) з контрольною групою, що свідчить за повільніші темпи загоєння. Достовірної різниці між підгрупою УЗ та контролем на третю добу не було виявлено ( $p > 0,05$ ), проте підгрупа НЧС/УЗ мала достовірно ( $p < 0,05$ ) кращі результати, ніж підгрупа УЗ ( $1,52 \pm 0,02 \text{ см}^2$ ). Відторгнення гнійно-некротичних тканин було швидшим у

підгрупі НЧС/УЗ ( $35,7 \pm 3,9 \%$ ), а відсоток площі некрозу в підгрупі УЗ ( $43,5 \pm 1,7 \%$ ) був також достовірно ( $p < 0,05$ ) меншим, ніж у групі контролю ( $57,3 \pm 1,8 \%$ , рис. 3.14). На відміну від ран з гострим рановим процесом, грануляційна тканина була ще відсутня.

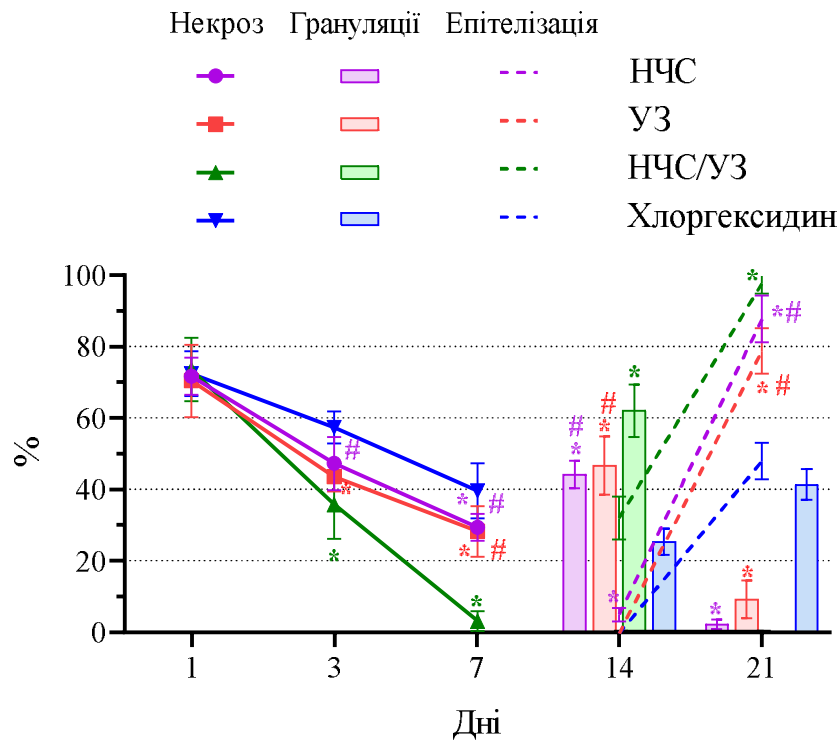


Рис. 3.14 – Динаміка планіметричних показників гнійних ран, що тривало не загоюються. \* – достовірна різниця у порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

Відсоток ЗПР за одну добу в період з 1-ої по 3-ю доби виявився найвищим у підгрупі НЧС/УЗ та становив  $4,19 \%$ ; у підгрупі УЗ –  $1,9 \%$ , у підгрупі НЧС –  $0,96 \%$ , та в групі контролю –  $0,96 \%$  (рис. 3.13).

На 7-му добу експерименту площа ран у підгрупі НЧС/УЗ достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізнялася від контрольної групи ( $1,46 \pm 0,03 \text{ см}^2$ ), підгрупи НЧС ( $1,33 \pm 0,02 \text{ см}^2$ ) та УЗ ( $1,35 \pm 0,02 \text{ см}^2$ ), і становила  $1,24 \pm 0,02 \text{ см}^2$ , що вказує на більш інтенсивні процеси регенерації (рис. 3.11). Площі ранових дефектів у підгрупах НЧС та УЗ також були достовірно ( $p < 0,05$ ) меншими в

порівнянні з групою Хлоргексидину, що теж підкреслює інтенсивність репаративних процесів. Ділянки некрозу залишалися в усіх групах, у той час як грануляційна тканина та епітелізація ще були відсутні. Відторгнення некрозу майже завершилось у підгрупі НЧС/УЗ, площа некротичних тканин становила  $3,0 \pm 1,1 \text{ см}^2$ , і достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізнялась з підгрупами НЧС ( $29,33 \pm 1,6 \text{ см}^2$ ), УЗ ( $28,2 \pm 2,9 \text{ см}^2$ ) та Хлоргексидину ( $39,5 \pm 3,1 \text{ см}^2$ , рис. 3.14). Показники підгруп НЧС та УЗ також мали достовірну різницю ( $p < 0,05$ ) з контрольною групою.

Відсоток ЗПР за одну добу в період з 3-ої по 7-му добу експерименту був найвищим у підгрупах НЧС (3,41 %) та НЧС/УЗ (3,16 %), у підгрупі УЗ – 2,8 %, та у контрольній групі – 1,4 % (рис. 3.13), що свідчить про переваги використання НЧС.

На 14-у добу ранові дефекти були найменшими в підгрупі НЧС/УЗ ( $0,6 \pm 0,03 \text{ см}^2$ ), майже однаковими в підгрупах НЧС ( $0,82 \pm 0,03 \text{ см}^2$ ) та УЗ ( $0,87 \pm 0,02 \text{ см}^2$ ) і найбільшими в групі контролю ( $1,15 \pm 0,04 \text{ см}^2$ , рис. 3.11). Повне очищення ран від некротичних тканин при стандартному лікуванні настало через  $13,7 \pm 0,6$  діб, тоді як у підгрупах НЧС – через  $11,2 \pm 0,5$  діб, УЗ –  $9,3 \pm 0,4$  діб та НЧС/УЗ –  $7,2 \pm 0,5$  діб ( $p < 0,05$ ). Результати в підгрупі НЧС/УЗ теж достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізнялись від підгруп НЧС та УЗ (рис. 3.14). Відсоток грануляційної тканини був найвищим у підгрупі НЧС/УЗ ( $62,0 \pm 2,9 \%$ ), порівняно з підгрупами НЧС ( $44,2 \pm 1,6 \%$ ), УЗ ( $46,7 \pm 3,3 \%$ ) та Хлоргексидину ( $25,3 \pm 1,5 \%$ ), (рис. 3.14). Терміни появи грануляцій у експериментальній групі також достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізнялися (НЧС –  $10,2 \pm 0,4$  діб, УЗ –  $10,5 \pm 0,16$  діб, НЧС/УЗ –  $8,3 \pm 0,2$  діб) від контрольної групи ( $12,0 \pm 0,5$  діб). На 14 день експерименту в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ спостерігалось  $5,3 \pm 0,8 \%$  та  $32,3 \pm 2,5 \%$  епітелізованих ділянок, епітелізація в яких почалася на  $13,3 \pm 0,2$  та  $11,5 \pm 0,4$  добу відповідно (рис. 3.14). У підгрупі УЗ та контрольній групі епітелізація з'явилася в пізніші терміни: на  $15,2 \pm 0,4$  та  $16,2 \pm 0,6$  добу, що достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізнялось від попередніх підгруп.

Відсоток ЗПР за одну добу в період з 7-ої по 14 добу був найвищим в підгрупі НЧС/УЗ – 7,37 %, порівняно з підгрупою УЗ (5,08 %), НЧС (5,48 %), та групою контролю (3,03 %) (рис. 3.13).

Спостерігалось повне закриття ранових дефектів в підгрупі НЧС/УЗ на  $20,3 \pm 0,7$  добу) на відміну від контрольної групи, підгруп НЧС та УЗ, в яких дефекти становили відповідно  $0,52 \pm 0,03$  см<sup>2</sup>;  $0,13 \pm 0,01$  см<sup>2</sup> та  $0,20 \pm 0,01$  см<sup>2</sup> (рис. 3.11). На 21-шу добу в групі з Хлоргексидином відмічався значний відсоток грануляційної тканини ( $41,3 \pm 1,8$  %), що пов'язано з пізнішим її дозріванням (рис. 3.14). Зменшення відсотку грануляцій у підгрупах НЧС ( $2,2 \pm 0,5$  %) та УЗ ( $9,2 \pm 2,2$  %) відбувається за рахунок інтенсивних процесів епітелізації ( $88,2 \pm 2,7$  % та  $79,2 \pm 2,6$  %). Крайова епітелізація в групі контролю на 21-шу добу становила  $48,3 \pm 2,1$  % від загальної площі ранових дефектів, у той час як у підгрупі НЧС/УЗ епітелізація майже завершилась ( $98,17 \pm 1,2$  %, рис. 3.14). Ранові дефекти в підгрупі НЧС остаточно загоїлися на  $23,2 \pm 0,5$  добу, в підгрупі УЗ – на  $24,5 \pm 0,4$  добу, і не мали достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) між собою, однак достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізнялися від контрольної групи, в якій загоєння ран відбулося на  $27,2 \pm 0,5$  добу.

Відсоток ЗПР за одну добу в період з 14-ої по 21-шу добу у контрольній групі становив 7,83 %, у підгрупі НЧС – 12,02 %, УЗ – 11,0 %, НЧС/УЗ – 15,87 % (рис. 3.13).

Показник СерШЗРП за весь період був найкращий в підгрупі НЧС/УЗ –  $0,0768$  см<sup>2</sup>/добу. СерШЗРП у підгрупі НЧС становив  $0,0677$  см<sup>2</sup>/добу, у підгрупі УЗ –  $0,0645$  см<sup>2</sup>/добу, а в групі контролю –  $0,0574$  см<sup>2</sup>/добу.

Отримані дані свідчать, що швидкість загоєння ран та параметрами, що характеризують перебіг ранового процесу (відторгнення некрозу, поява грануляцій та епітелізації, ЗПР, СерШЗРП) виявилися кращими в підгрупі НЧС/УЗ у порівнянні з традиційним лікуванням та монотерапією НЧС чи УЗ. У свою чергу, окреме застосування НЧС та УЗ мало переваги перед використанням Хлоргексидину.

### 3.4 Особливості мікрофлори гнійних ран у експериментальних та контрольних групах

#### 3.4.1 Особливості мікрофлори ранових поверхонь при гострому гнійному рановому процесі

На початку експерименту (рис. 3.15) загальна кількість мікроорганізмів у всіх групах була майже однаковою та коливалась у межах  $7,8 \pm 0,08 - 8,2 \pm 0,12 \log_{10}$  КУО ( $p > 0,05$ ). На першу добу (рис. 3.15) відмічалось незначне зменшення кількості мікрофлори, однак між групами не спостерігалось статистично значущих відмінностей ( $p > 0,05$ ): НЧС –  $7,05 \pm 0,1 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $7,02 \pm 0,1 \log_{10}$  КУО, НЧС/УЗ –  $7,15 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО, контроль –  $6,83 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО.

Відчутний антибактеріальний ефект в експериментальній групі спостерігався з третьої доби (рис. 3.15): найкращі показники були в підгрупах НЧС ( $5,16 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО) та НЧС/УЗ ( $3,12 \pm 0,19 \log_{10}$  КУО),  $p \leq 0,0001$ . Статистично значущої різниці між підгрупою УЗ ( $6,1 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО) та групою контролю ( $6,24 \pm 0,13 \log_{10}$  КУО) не було виявлено. На п'яту добу (рис. 3.15) загальна кількість мікроорганізмів у всіх групах продовжувала зменшуватись, особливо в підгрупах НЧС ( $2,45 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО) та НЧС/УЗ ( $1,2 \pm 0,03 \log_{10}$  КУО),  $p \leq 0,0001$ , однак показники підгрупи УЗ ( $5,45 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО) продовжували зберігатись на високому рівні та майже не відрізнялись від групи контролю ( $5,14 \pm 0,1 \log_{10}$  КУО).

На сьому добу (рис. 3.15) у підгрупі НЧС/УЗ рани майже повністю очистились від мікрофлори ( $0,05 \pm 0,003 \log_{10}$  КУО,  $p \leq 0,0001$ ), а показники підгруп НЧС ( $1,01 \pm 0,03 \log_{10}$  КУО) та УЗ ( $2,1 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО) були достовірно нижчими ( $p \leq 0,0001$ ), ніж в групі контролю ( $3,2 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО). На десяту добу (рис. 3.15) в підгрупі НЧС/УЗ залишились лише поодинокі колонії мікроорганізмів ( $0,03 \pm 0,006 \log_{10}$  КУО), у той час як бактеріальне обсіменіння підгруп НЧС ( $0,5 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО) та



УЗ ( $0,2 \pm 0,02 \log_{10}$  КУО) продовжувало достовірно ( $p \leq 0,0001$ ) зменшуватись.

На 14-у добу (рис. 3.15) мікроорганізми залишилися лише в групі із застосуванням Хлоргексидину ( $0,5 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО). Слід зазначити, що показники підгрупи НЧС/УЗ з третьої по десяту добу також мали достовірно ( $p \leq 0,0001$ ) нижчі показники не лише порівняно з групою контролю, але й з підгрупами НЧС та УЗ, що вказує на кращий антибактеріальний ефект при комбінованому застосуванні.

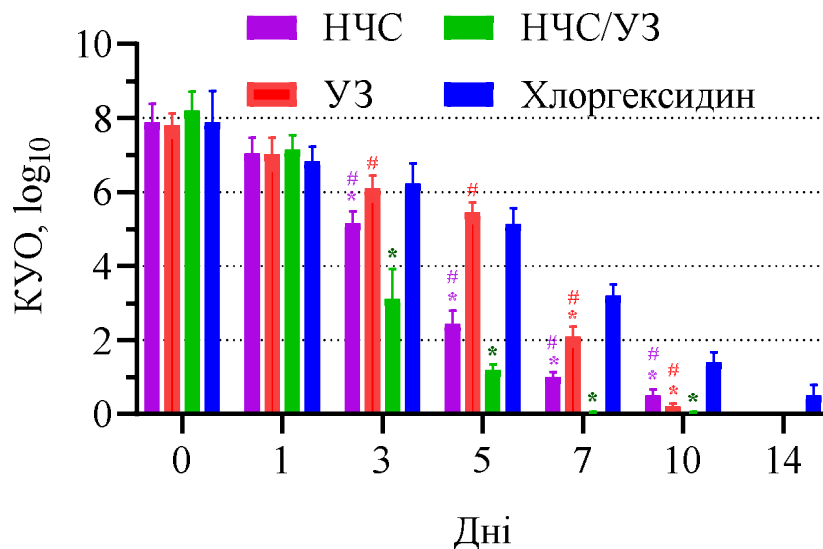


Рис. 3.15 – Рівень мікробного обміненія ранових поверхонь при гострому гнійному рановому процесі. \* – достовірна різниця у порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

Після 72-годинного періоду формування гнійної рани кількість мікроорганізмів *S. aureus* у всіх групах була майже однаковою та коливалась у межах  $2,15 \pm 0,11 - 2,4 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО ( $p > 0,05$ , рис. 3.16). На першу добу також не спостерігалось достовірної різниці між групами: НЧС –  $2,5 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $2,7 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО, НЧС/УЗ –  $2,4 \pm 0,15 \log_{10}$  КУО, контроль –  $2,6 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО ( $p > 0,05$ ). На третю

добу в підгрупах НЧС ( $1,2 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО) та НЧС/УЗ ( $0,68 \pm 0,66 \log_{10}$  КУО) спостерігалась достовірно меча кількість *S. aureus*, порівняно з підгрупами УЗ ( $2,1 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО) та контролю ( $2,0 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО),  $p < 0,0001$ , причому показники підгрупи НЧС/УЗ мали достовірну різницю з підгрупою НЧС ( $p \leq 0,0001$ , рис. 3.16).

На п'яту добу в підгрупі НЧС/УЗ *S. aureus* не висівався, а кількість мікроорганізмів у підгрупі НЧС ( $0,05 \pm 0,02 \log_{10}$  КУО) достовірно відрізнялась від підгрупи УЗ ( $2,0 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО) та групи контролю ( $0,99 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО), ( $p \leq 0,0001$ , рис. 3.16). На сьому добу відбулася повна елімінація *S. aureus* у підгрупі НЧС, тоді як у підгрупі УЗ та групі контролю *S. aureus* виділявся до 10-ї доби ( $0,2 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО та  $0,2 \pm 0,01 \log_{10}$  КУО відповідно, рис. 3.16).

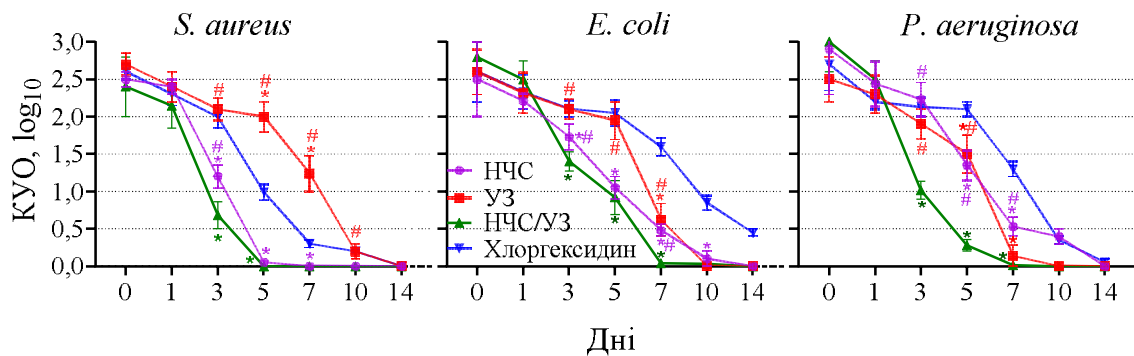


Рис. 3.16 – Кількісний та якісний склад мікрофлори ранових поверхонь при гострому гнійному рановому процесі. \* – достовірна різниця у порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

На початку експерименту кількість мікроорганізмів *E. coli* у всіх досліджуваних групах була майже однаковою:  $2,5 \pm 0,18$  –  $2,8 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО (рис. 3.16). На першу добу відбулося незначне зменшення кількості мікроорганізмів у всіх групах, однак достовірної різниці не спостерігалось: НЧС –  $2,2 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $2,3 \pm 0,1 \log_{10}$  КУО,

НЧС/УЗ –  $2,5 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО, контроль –  $2,3 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО ( $p > 0,05$ ). На третю добу в підгрупах НЧС ( $1,73 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО) та НЧС/УЗ ( $1,4 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО) спостерігалась достовірно ( $p < 0,05$ ) менша кількість *E. coli*, порівняно з підгрупами УЗ ( $2,1 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО) та контролю ( $2,1 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО), а різниця між підгрупами НЧС/УЗ та НЧС була теж достовірною ( $p \leq 0,0001$ ) (рис. 3.16).

На п'яту добу обсіменіння ран кишковою паличкою у підгрупах НЧС ( $1,05 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО) та НЧС/УЗ ( $0,92 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО) продовжувало зменшуватись та мало достовірну різницю ( $p \leq 0,0001$ ) з підгрупами УЗ ( $1,95 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО) та контролю ( $2,05 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО) (рис. 3.16). На цьому добу залишалися поодинокі колонії *E. coli* в підгрупі НЧС/УЗ ( $0,04 \pm 0,002 \log_{10}$  КУО), а в підгрупі УЗ ( $0,62 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО) спостерігалось стрімке зменшення бактеріального забруднення ран. Показники підгруп УЗ, НЧС/УЗ та НЧС ( $0,48 \pm 0,03 \log_{10}$  КУО) мали достовірну різницю ( $p \leq 0,0001$ ) з контрольною групою ( $1,6 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО), в той час як підгрупа НЧС/УЗ достовірно ( $p \leq 0,0001$ ) відрізнялась від підгруп НЧС та УЗ (рис. 3.16).

На десяту добу повністю зникли колонії *E. coli* в підгрупі УЗ, а обсіменіння підгруп НЧС ( $0,1 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО) та НЧС/УЗ ( $0,03 \pm 0,004 \log_{10}$  КУО) було істотно ( $p \leq 0,0001$ ) меншим ніж у групі з використанням Хлоргексидину ( $0,85 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО) (рис. 3.16). На 14-ту добу спостереження *E. coli* виділялася лише в групі контролю ( $0,45 \pm 0,02 \log_{10}$  КУО, рис. 3.16).

Початкова кількість *P. aeruginosa* у всіх групах була майже на одному рівні:  $2,5 \pm 0,11$  –  $3,0 \pm 0,15 \log_{10}$  КУО (рис. 3.16). На першу добу відбулось незначне зменшення кількості мікроорганізмів у всіх групах, однак достовірної різниці не спостерігалось ( $p > 0,05$ ): НЧС –  $2,4 \pm 0,11 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $2,3 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО, НЧС/УЗ –  $2,5 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО, контроль –  $2,2 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО (рис. 3.16). Починаючи з третьої доби в підгрупі НЧС/УЗ ( $1,02 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО) кількість мікроорганізмів різко зменшувалась та була

достовірно нижчою, порівняно з підгрупами НЧС ( $1,73 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО), УЗ ( $2,1 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО) та контролю ( $2,1 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО),  $p \leq 0,0001$  (рис. 3.16).

На п'яту добу обсіменіння ран в підгрупі НЧС/УЗ ( $0,92 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО) продовжувало зменшуватись та мало достовірну різницю з підгрупами НЧС ( $1,35 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО), УЗ ( $1,5 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО) та групою контролю ( $2,1 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО),  $p \leq 0,0001$ , причому показники підгруп НЧС та УЗ також достовірно різнились з групою контролю ( $p \leq 0,0001$ , рис. 3.16). На сьому добу залишились поодинокі колонії *P. aeruginosa* в підгрупі НЧС/УЗ ( $0,01 \pm 0,004 \log_{10}$  КУО), а в підгрупі УЗ ( $0,14 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО) спостерігалось стрімке зниження бактеріального забруднення ран. Показники підгруп УЗ, НЧС/УЗ та НЧС ( $0,53 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО) мали достовірну різницю ( $p \leq 0,0001$ ) з контрольною групою ( $1,3 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО), а підгрупа НЧС/УЗ достовірно різнилась з підгрупою НЧС ( $p \leq 0,0001$ , рис. 3.16).

На десяту добу рани повністю очистились від *P. aeruginosa* в підгрупах УЗ та НЧС/УЗ, однак показники підгруп НЧС ( $0,4 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО) та Хлоргексидину ( $0,35 \pm 0,02 \log_{10}$  КУО) не мали достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) (рис. 3.16). На 14-ту добу спостерігалась незначна кількість колоній *P. aeruginosa* лише в групі контролю ( $0,05 \pm 0,02 \log_{10}$  КУО) (рис. 3.16).

Отримані дані свідчать про швидшу елімінацію патогенної мікрофлори в підгрупі із застосуванням НЧС/УЗ – бактеріальне обсіменіння ран у цій підгрупі було майже відсутнє починаючи з 7-ої доби, тоді як у підгрупах НЧС та УЗ зберігалось до 10 доби, а в контрольній – до 14-ої.

Найбільшу антибактеріальну активність НЧС та УЗ при поєднаному застосуванні продемонстрували відносно *S. aureus*, який не відмічався в ранах підгрупи НЧС/УЗ починаючи з 5-ої доби. При застосуванні НЧС без УЗ, *S. aureus* висівався з ран до 7-ої доби, тоді як *E. coli* та *P. aeruginosa* – до 14-ої. Однак, УЗ виявився більш ефективним проти *E. coli* та *P. aeruginosa*, які були відсутні у висівах на 10-у добу, тоді як *S. aureus* спостерігався до

14-ої доби. Найгірші показники спостерігалися в контрольній групі відносно *E. coli*, яка висівалася з ран після 14-ої доби експерименту.

### 3.4.2 Особливості мікрофлори поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються

На початку експерименту загальна кількість мікроорганізмів у всіх групах була майже однаковою та коливалась у межах  $9,56 \pm 0,37$  –  $9,75 \pm 0,46 \log_{10}$  КУО ( $p > 0,05$ ) (рис. 3.17). На першу добу дослідження відмічалось незначне зменшення кількості мікрофлори, однак між групами статистично значущих відмінностей не спостерігалось ( $p > 0,05$ ): НЧС –  $9,34 \pm 0,34 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $9,42 \pm 0,3 \log_{10}$  КУО, НЧС/УЗ –  $9,52 \pm 0,32 \log_{10}$  КУО, контроль –  $9,48 \pm 0,33 \log_{10}$  КУО (рис. 3.17).

На третю добу загальна кількість мікроорганізмів у підгрупі НЧС/УЗ ( $7,81 \pm 0,29 \log_{10}$  КУО) достовірно ( $p \leq 0,0001$ ) зменшилась порівняно з контрольною групою ( $9,43 \pm 0,32 \log_{10}$  КУО), в той час як показники підгруп НЧС ( $9,28 \pm 0,37 \log_{10}$  КУО) та УЗ ( $9,34 \pm 0,23 \log_{10}$  КУО) не мали суттєвих відмінностей ( $p > 0,05$ ) (рис. 3.17). Відчутний антибактеріальний ефект в експериментальних підгрупах спостерігається з п'ятої доби (рис. 3.17): НЧС –  $8,42 \pm 0,18 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $8,31 \pm 0,19 \log_{10}$  КУО та НЧС/УЗ –  $7,54 \pm 0,18 \log_{10}$  КУО на відміну від групи з застосуванням Хлоргексидину ( $9,41 \pm 0,34 \log_{10}$  КУО),  $p < 0,05$  (рис. 3.17). На сьому добу (рис. 3.17) показники підгрупи НЧС/УЗ ( $6,67 \pm 0,13 \log_{10}$  КУО) відрізнялися ( $p \leq 0,0001$ ) не лише від контрольної групи ( $9,14 \pm 0,27 \log_{10}$  КУО), але і від підгруп НЧС ( $7,92 \pm 0,18 \log_{10}$  КУО) та УЗ ( $8,04 \pm 0,17 \log_{10}$  КУО),  $p < 0,05$ . Бактеріальне забруднення ран у підгрупах НЧС та УЗ у свою чергу було меншим ( $p < 0,05$ ), ніж в групі контролю (рис. 3.17).

На десяту добу загальна кількість мікроорганізмів у всіх групах продовжувала зменшуватись, особливо в підгрупах НЧС ( $5,38 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО), УЗ ( $5,74 \pm 0,16 \log_{10}$  КУО) та НЧС/УЗ

( $3,46 \pm 0,18 \log_{10}$  КУО), які мали достовірну ( $p \leq 0,0001$ ) відмінність від контрольної групи ( $7,74 \pm 0,21 \log_{10}$  КУО). Показники підгрупи НЧС/УЗ, як і на сьому добу, були меншими ніж у підгрупах НЧС та УЗ ( $p \leq 0,0001$ , рис. 3.17). На 14-ту добу показники груп з аналогічним співвідношенням продовжували зменшуватись: НЧС –  $3,15 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $3,45 \pm 0,11 \log_{10}$  КУО, НЧС/УЗ –  $1,18 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО, контроль –  $5,52 \pm 0,14 \log_{10}$  КУО,  $p \leq 0,0001$  (рис. 3.17). На 21-шу добу мікроорганізми залишились лише в групі із застосуванням Хлоргексидину ( $2,43 \pm 0,11 \log_{10}$  КУО) (рис. 3.17). Слід відмітити, що показники підгрупи НЧС/УЗ з сьомої по 14-ту добу мали достовірно нижчі показники не лише порівняно з групою контролю, але й з підгрупами НЧС та УЗ, що вказує на превалюючий антибактеріальний ефект при комбінованому застосуванні НЧС та УЗ.

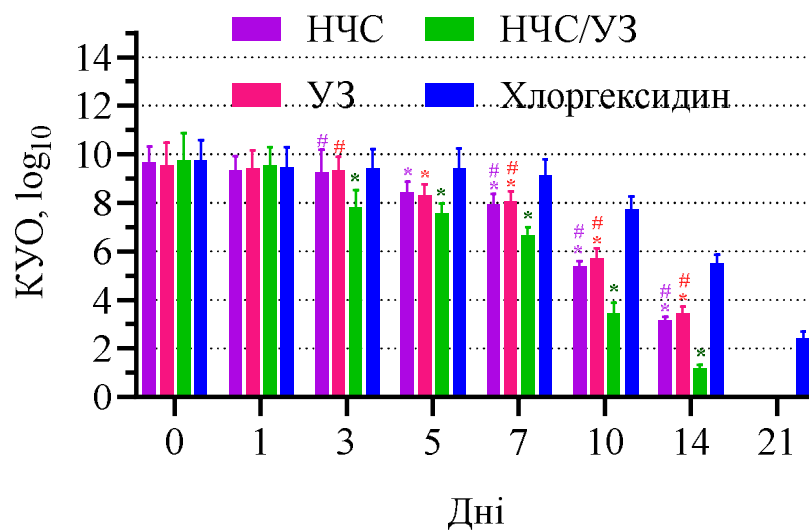


Рис. 3.17 – Рівень мікробного обміненія поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються. \* – достовірна різниця у порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

Після 10-денного періоду формування ран, що тривало не загоюються, кількість мікроорганізмів *S. aureus* у всіх групах була майже однаковою та

коливалась у межах  $3,12 \pm 0,18 - 3,35 \pm 0,15 \log_{10}$  КУО ( $p > 0,05$ ) (рис. 3.18). На першу добу не спостерігалось достовірної різниці між групами ( $p > 0,05$ ): НЧС –  $3,2 \pm 0,23 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $3,1 \pm 0,17 \log_{10}$  КУО, НЧС/УЗ –  $3,18 \pm 0,14 \log_{10}$  КУО, контроль –  $3,08 \pm 0,2 \log_{10}$  КУО (рис. 3.18). На третю добу було зафіксоване помітне зменшення кількості *S. aureus* у підгрупі НЧС/УЗ ( $2,71 \pm 0,13 \log_{10}$  КУО), однак достовірної різниці з підгрупами НЧС ( $3,27 \pm 0,19 \log_{10}$  КУО), УЗ ( $3,09 \pm 0,17 \log_{10}$  КУО) та Хлоргексидину ( $3,12 \pm 0,19 \log_{10}$  КУО) не було виявлено ( $p > 0,05$ ) (рис. 3.18).

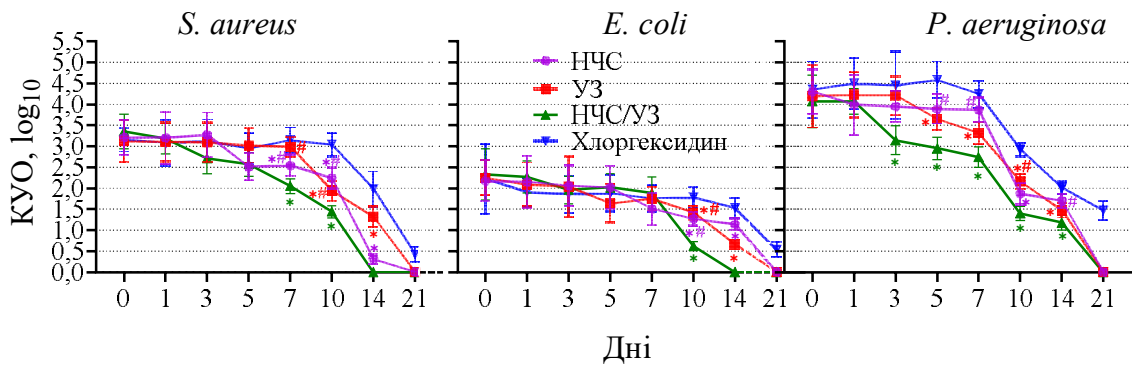


Рис. 3.18 – Кількісний та якісний склад мікрофлори поверхонь гнійних ран, що тривало не загоюються. \* – достовірна різниця у порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

На п'яту добу кількість *S. aureus* у всіх групах продовжувала повільно зменшуватись: НЧС –  $2,51 \pm 0,12 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $3,02 \pm 0,15 \log_{10}$  КУО, НЧС/УЗ –  $2,57 \pm 0,1 \log_{10}$  КУО, контроль –  $2,95 \pm 0,13 \log_{10}$  КУО ( $p > 0,05$ ) (рис. 3.18). На сьому добу в підгрупах НЧС ( $2,54 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО) та НЧС/УЗ ( $2,05 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО) спостерігалась достовірно ( $p < 0,05$ ) менша кількість *S. aureus* порівняно з підгрупами УЗ ( $2,98 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО) та контролю ( $3,14 \pm 0,11 \log_{10}$  КУО), водночас показники підгрупи НЧС/УЗ мали достовірну різницю ( $p < 0,05$ ) з підгрупою НЧС (рис. 3.18).

На десяту добу обсіменіння ран у підгрупі НЧС/УЗ ( $1,44 \pm 0,55 \log_{10}$  КУО) продовжувало зменшуватись та мало достовірну різницю з підгрупами НЧС ( $2,24 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО,  $p \leq 0,0001$ ), УЗ ( $1,94 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО,  $p < 0,05$ ) та групою контролю ( $3,04 \pm 0,1 \log_{10}$  КУО,  $p \leq 0,0001$ ), водночас показники підгруп НЧС та УЗ також достовірно різнилися з групою контролю ( $p \leq 0,0001$ , рис. 3.18). На 14-ту добу в підгрупі НЧС/УЗ *S. aureus* не висівався, а кількість колоній в підгрупах НЧС ( $0,31 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО) та УЗ ( $1,32 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО) достовірно ( $p \leq 0,0001$ ) відрізнялась від групи контролю ( $1,98 \pm 0,15 \log_{10}$  КУО) (рис. 3.18). На 21-шу добу відбулася повна елімінація *S. aureus* у підгрупах НЧС та УЗ, тоді як у групі контролю кількість *S. aureus* становила  $0,42 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО (рис. 3.18).

На початку експерименту кількість мікроорганізмів *E. coli* у всіх досліджуваних групах була майже однаковою:  $2,18 \pm 0,18$  –  $2,33 \pm 0,22 \log_{10}$  КУО (рис. 3.18). З першої по сьому добу спостерігалось поступове зменшення кількості колоній *E. coli* у всіх досліджуваних групах (НЧС:  $2,15 \pm 0,23 \rightarrow 2,06 \pm 0,18 \rightarrow 2,02 \pm 0,19 \rightarrow 1,51 \pm 0,14 \log_{10}$  КУО; УЗ:  $2,09 \pm 0,19 \rightarrow 2,04 \pm 0,26 \rightarrow 1,64 \pm 0,17 \rightarrow 1,75 \pm 0,1 \log_{10}$  КУО; НЧС/УЗ:  $2,27 \pm 0,14 \rightarrow 1,96 \pm 0,12 \rightarrow 2,02 \pm 0,12 \rightarrow 1,88 \pm 0,14 \log_{10}$  КУО; Хлоргексидин:  $1,9 \pm 0,12 \rightarrow 1,86 \pm 0,16 \rightarrow 1,88 \pm 0,16 \rightarrow 1,76 \pm 0,12 \log_{10}$  КУО), однак статистично значущих відмінностей між групами не було виявлено ( $p > 0,05$ , рис. 3.18).

На десяту добу в підгрупі НЧС/УЗ ( $0,62 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО) почалося стрімке зменшення бактеріального забруднення ран. Показники підгруп УЗ ( $1,42 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО,  $p < 0,05$ ), НЧС/УЗ ( $p \leq 0,0001$ ) та НЧС ( $1,27 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО,  $p \leq 0,0001$ ) мали достовірну різницю з контрольною групою ( $1,78 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО), у той час як підгрупа НЧС/УЗ достовірно ( $p \leq 0,0001$ ) відрізнялась від підгруп НЧС та УЗ (рис. 3.18). На 14-ту добу повністю зникли колонії *E. coli* в підгрупі НЧС/УЗ, а показники підгруп НЧС ( $1,14 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО,  $p < 0,05$ ) та УЗ ( $0,66 \pm 0,04 \log_{10}$  КУО,  $p \leq 0,0001$ ) були істотно меншими, ніж у групі з використанням Хлоргексидину



( $1,53 \pm 0,09 \log_{10}$  КУО) (рис. 3.18). На 21-шу добу спостереження мікроорганізми *E. coli* залишились лише в групі контролю ( $0,54 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО), (рис. 3.18).

Початковий рівень контамінації *P. aeruginosa* у всіх групах був майже однаковий:  $4,07 \pm 0,23 - 4,35 \pm 0,24 \log_{10}$  КУО (рис. 3.18). На першу добу відбулось незначне зниження кількості мікроорганізмів лише в підгрупі НЧС, проте достовірної різниці між досліджуваними групами не спостерігалось ( $p > 0,05$ ): НЧС –  $3,99 \pm 0,26 \log_{10}$  КУО, УЗ –  $4,23 \pm 0,2 \log_{10}$  КУО, НЧС/УЗ –  $4,07 \pm 0,11 \log_{10}$  КУО, контроль –  $4,5 \pm 0,22 \log_{10}$  КУО (рис. 3.18). Починаючи з третьої доби в підгрупі НЧС/УЗ ( $3,14 \pm 0,12 \log_{10}$  КУО) кількість мікроорганізмів різко зменшувалась та була достовірно ( $p < 0,05$ ) нижчою порівняно з підгрупами НЧС ( $3,95 \pm 0,14 \log_{10}$  КУО), УЗ ( $4,21 \pm 0,17 \log_{10}$  КУО) та контролю ( $4,45 \pm 0,3 \log_{10}$  КУО), однак достовірної різниці між підгрупами НЧС, УЗ та контрольною групою не було виявлено ( $p > 0,05$ , рис. 3.18).

На п'яту добу обсіменіння ран у підгрупі НЧС/УЗ ( $2,95 \pm 0,1 \log_{10}$  КУО) продовжувало зменшуватись та мало достовірну різницю з підгрупами НЧС ( $3,89 \pm 0,13 \log_{10}$  КУО,  $p < 0,05$ ), УЗ ( $3,65 \pm 0,1 \log_{10}$  КУО,  $p < 0,05$ ) та контролю ( $4,58 \pm 0,16 \log_{10}$  КУО,  $p \leq 0,0001$ ), водночас показники підгруп НЧС та УЗ також достовірно різнилися з групою контролю ( $p < 0,05$ , рис. 3.18). З 7-ї по 14-ту добу зберігалась аналогічна тенденція зменшення мікробного забруднення ран у підгрупі НЧС/УЗ ( $2,74 \pm 0,09 \rightarrow 1,4 \pm 0,06 \rightarrow 1,18 \pm 0,07 \log_{10}$  КУО) з достовірною ( $p < 0,05$ ) різницею з підгрупами НЧС ( $3,87 \pm 0,11 \rightarrow 1,87 \pm 0,09 \rightarrow 1,7 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО), УЗ ( $3,31 \pm 0,1 \rightarrow 2,16 \pm 0,07 \rightarrow 1,47 \pm 0,06 \log_{10}$  КУО) та контрольною групою ( $4,24 \pm 0,12 \rightarrow 2,92 \pm 0,06 \rightarrow 2,01 \pm 0,05 \log_{10}$  КУО), причому показники підгруп НЧС та УЗ також достовірно різнилися з групою контролю на десяту та 14-ту добу ( $p < 0,05$ , рис. 3.18). На 21-у добу *P. aeruginosa* виявлялася лише в групі контролю ( $1,47 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО, рис. 3.18).

Отримані дані свідчать за активну елімінацію патогенної мікрофлори в підгрупах із застосуванням НЧС, УЗ та НЧС/УЗ, порівняно з контрольною

групою. Бактеріальне обсіменіння ран у цих підгрупах на 21-шу добу було відсутнє, тоді як у контрольній групі зберігалось після 21-ої доби.

Починаючи з перших днів лікування при гнійних ранах, що тривало не загоюються, кількість *E. coli* була в два рази меншою ( $2,18 \pm 0,18 - 2,33 \pm 0,22 \log_{10}$  КУО), ніж *P. aeruginosa* ( $4,07 \pm 0,23 - 4,35 \pm 0,24 \log_{10}$  КУО), на відміну від гострих гнійних ран, де вихідна концентрація мікроорганізмів була приблизно однаковою.

Найбільшу антибактеріальну активність НЧС та УЗ при поєднаному застосуванні виявили проти *S. aureus* та *E. coli*, які не висівалися з ран підгрупи НЧС/УЗ, починаючи з 14-ої доби. При монотерапії НЧС та УЗ, *S. aureus* та *E. coli* висівалися до 21-ої доби, тоді як у контрольній групі всі види мікроорганізмів залишалися після 21-ої доби. Слід відмітити, що не було відмінностей між підгрупами НЧС/УЗ, НЧС та УЗ у швидкості елімінації *P. aeruginosa*. Найгірші показники в контрольній групі спостерігалися при дослідженні *P. aeruginosa*, яка зберігалася до 21-ої доби експерименту та становила  $1,47 \pm 0,08 \log_{10}$  КУО.

### **3.5 Патогістологічне дослідження гнійних ран в експериментальних та контрольних групах**

#### **3.5.1 Патогістологічне дослідження ран при гострому гнійному рановому процесі**

На 1-шу добу в усіх групах гістологічна будова стінок та дна рани була подібною (рис. 3.19). Рани мали характерні ознаки гострого гнійного запалення з інтерстиціальним набряком та відсутністю диференціювання шарів шкіри. Тканини навколо волосяних цибулин були набряклими. Поверхневий лейкоцитарно-некротичний шар був значно виражений, некротичні тканини інфільтровані великою кількістю сегментоядерних лейкоцитів. Підлегла дерма була набрякла, кровоносні судини – повнокровні, нерідко з крововиливами. У

підлеглих тканинах були розташовані дрібно- та грубозернисті м'язові волокна в стані білкової дистрофії. У деяких тварин відмічався помітний вогнищевий некроз підшкірної клітковини та, частково, м'язів. Морфометричні показники у всіх групах достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ , рис. 3.20, 3.21).

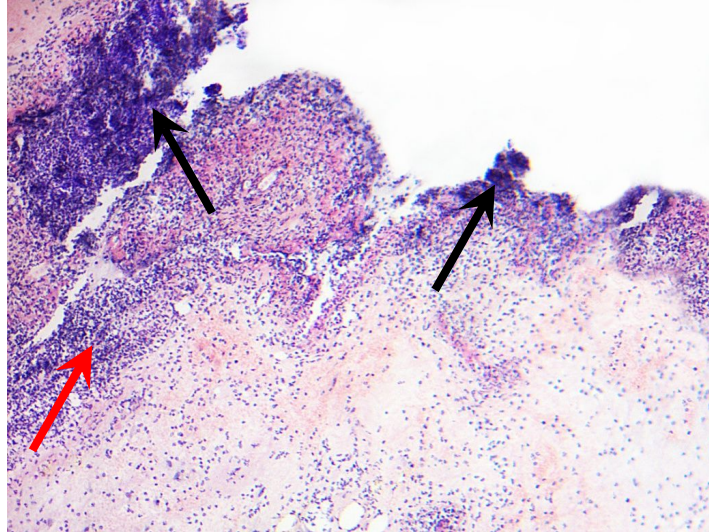


Рис. 3.19 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на першу добу експерименту. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  
 —————> – некроз; —————> – запальна інфільтрація

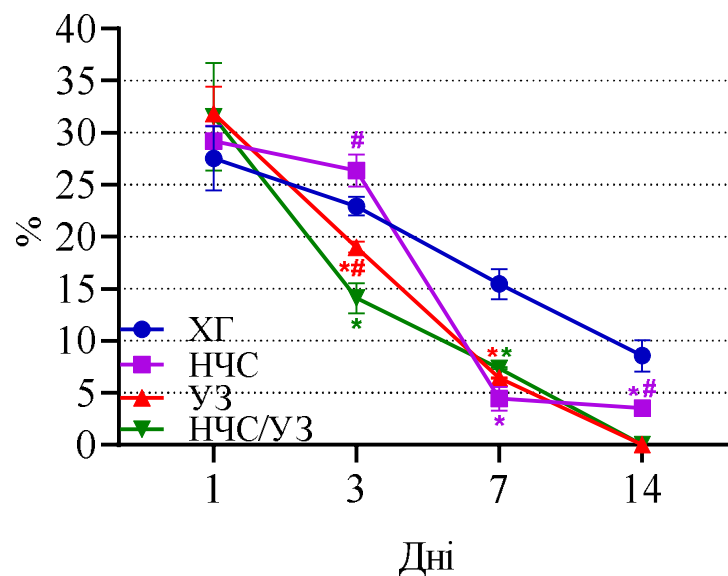


Рис. 3.20 – ВПСН, %. \* – достовірна різниця в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця в порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

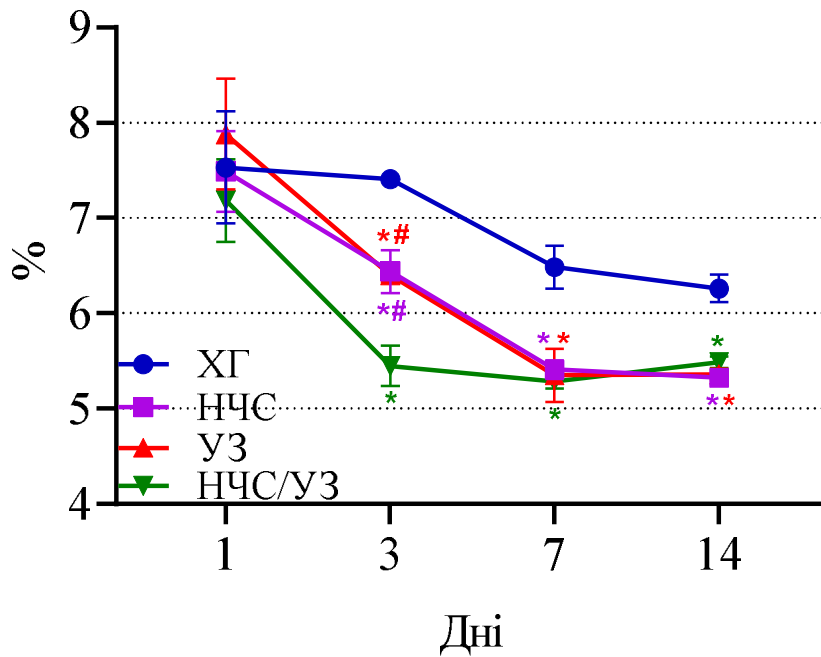


Рис. 3.21 – ВПСД, %. \* – достовірна різниця в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця в порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

На 3-тю добу в підгрупі НЧС на поверхнях ран спостерігалось зменшення пласту некротичних тканин, фібрину та кров'яних згустків. (рис. 3.22). Продовжувалось виділення фібринозно-гнійного ексудату. Запальна інфільтрація, стромальний набряк, наявність опасистих клітин, полібластів, нейтрофілів та макрофагів вказували на активний запальний процес. Кровоносні судини були розширені та повнокровні, спостерігався гемоліз еритроцитів та периваскулярний набряк.

ВПСН становила  $26,4 \pm 3,76$  %, однак не мала достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) з контрольною групою ( $22,95 \pm 2,1$  %), (рис. 3.20). Показник ВПСД ( $6,44 \pm 0,55$  %) був достовірно ( $p < 0,05$ ) меншим від групи контролю ( $7,41 \pm 0,12$  %), а ВПГТ становила  $3,95 \pm 1,65$  %, у той час як у контрольній групі вона ще була відсутня (рис. 3.21, 3.23).

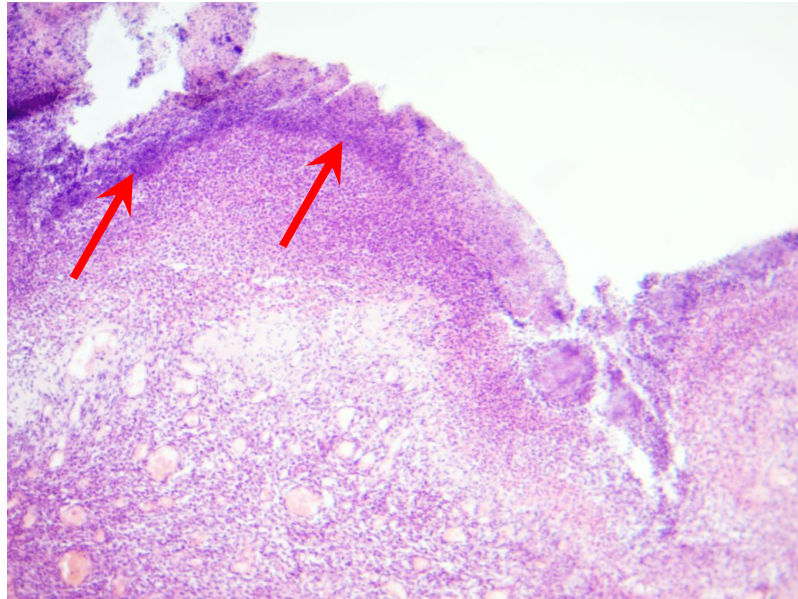


Рис. 3.22 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на третю добу експерименту в підгрупі НЧС. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\rightarrow$  – запальна інфільтрація

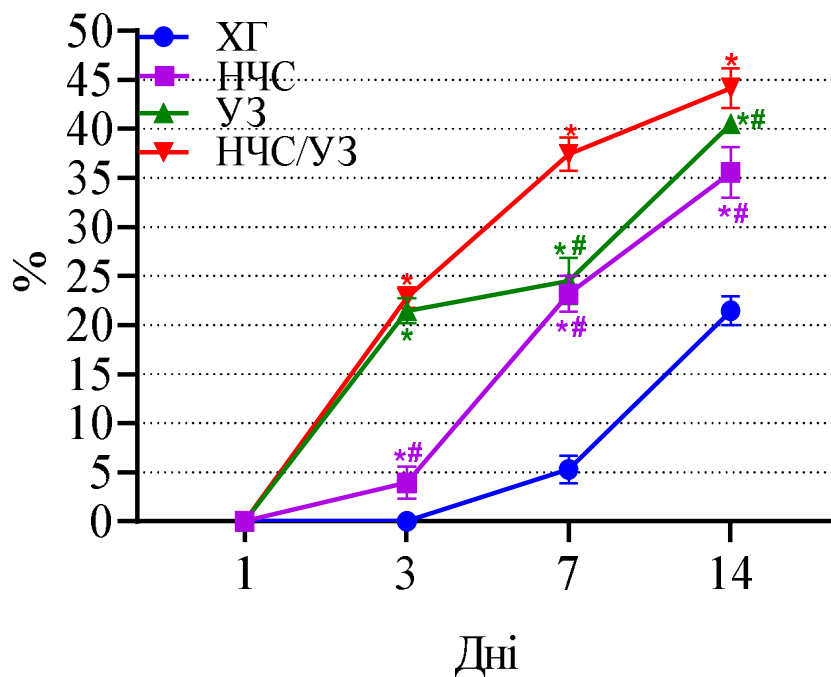


Рис. 3.23 – ВПГТ, %. \* – достовірна різниця в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця в порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

На 3-тю добу в підгрупі УЗ в поверхневих та підлеглих шарах зберігався набряк (рис. 3.24). Місцями, на поверхні рани визначався фібрин з великою кількістю нейтрофілів. Порожнина рани була заповнена кров'ю та клітинним детритом, у якому почали з'являтися круглоядерні елементи та фібробласти. На фоні значної лейкоцитарної інфільтрації клітинні елементи розподілялися у вигляді «валу», відмежовуючи поряд розташовані тканини. Зберігалися дрібні крововиливи навколо волосяних фолікулів.

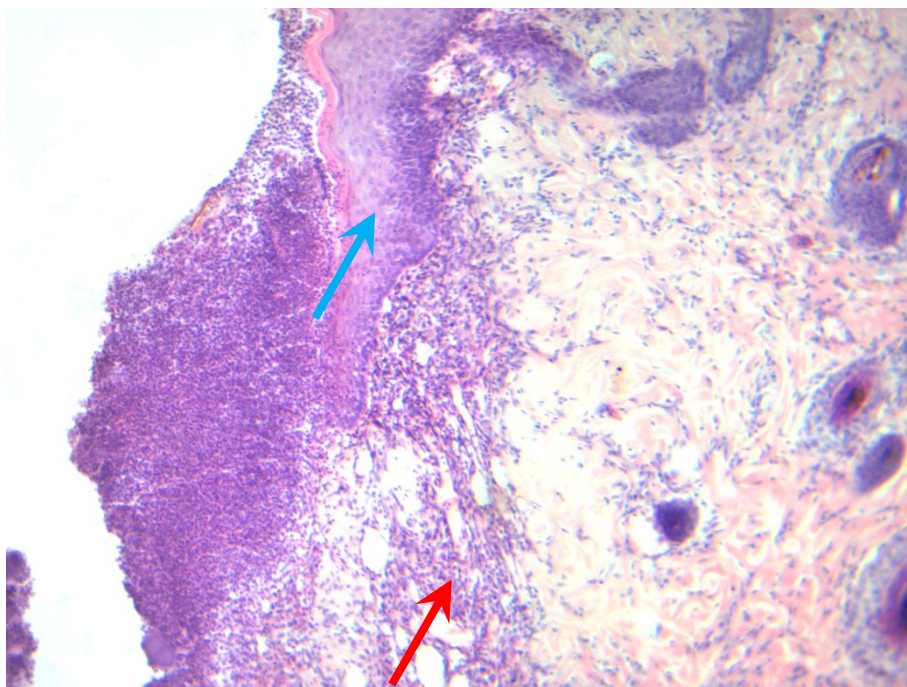


Рис. 3.24 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на третю добу експерименту в підгрупі УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\rightarrow$  – запальна інфільтрація;  $\rightarrow$  – епітелій

ВПСН ( $19,0 \pm 1,25$  %) та ВПСД ( $6,4 \pm 0,19$  %) були достовірно ( $p < 0,05$ ) меншими від групи контролю, а ВПГТ ( $21,49 \pm 1,25$  %) – достовірно більшою ( $p < 0,05$ , рис. 3.20, 3.21, 3.23).

На 3-тю добу в підгрупі НЧС/УЗ у порожнині рани детриту було менше, порівняно з іншими підгрупами; він розташовувався у вигляді вузької смужки в окремих ділянках рани (рис. 3.25). Відмічалось

зменшення периваскулярного та стромального набряків, хоча повнокрів'я капілярів ще зберігалось. Клітинний склад інфільтрованого шару характеризувався поліморфністю з переважанням нейтрофілів, лімфоцитів, макрофагів, плазматичних клітин; зустрічалися поодинокі фібробласти та гістіоцити. З наближенням до центру рани кількість нейтрофілів збільшувалася. Повсюдно визначалися новоутворені капіляри: розширені, повнокровні, розташовані переважно по периферії зони некрозу, що є проявом ексудативної тканинної реакції. Лейкоцитарний «вал» зменшувався, а в підшкірній клітковині навколо рани та в м'язах зберігалась помірна лейкоцитарна інфільтрація.

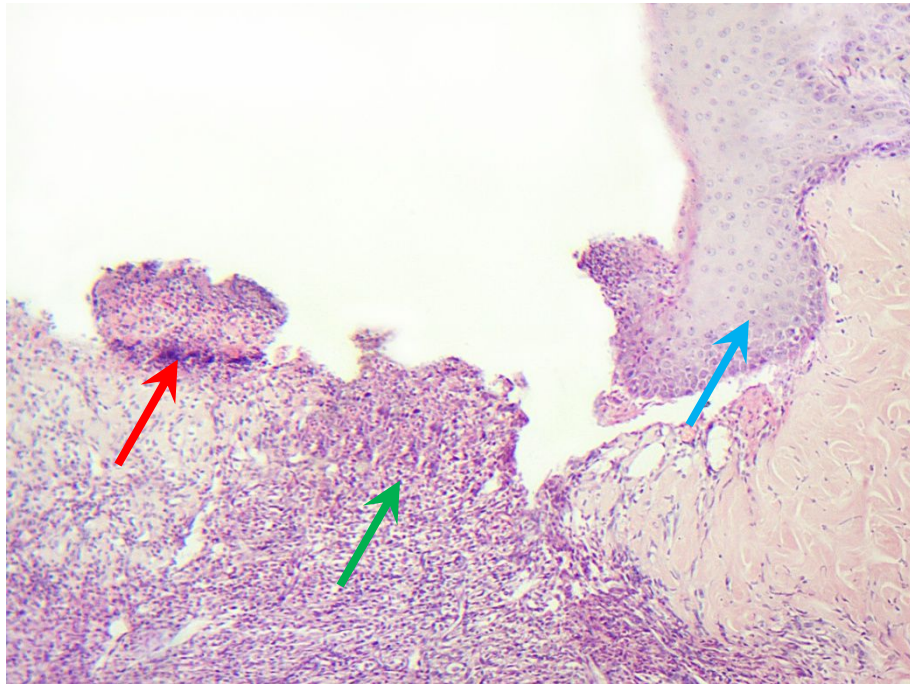


Рис. 3.25 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на третю добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . → – запальна інфільтрація; → – грануляційна тканина; → – епітелій

ВПСН ( $14,11 \pm 3,55$  %) та ВПСД ( $5,45 \pm 0,52$  %) у цій підгрупі були достовірно ( $p < 0,05$ ) меншими, ніж в групі контролю та підгрупах НЧС та

УЗ, а ВПГТ ( $22,8 \pm 1,03 \%$ ) – достовірно більшою ( $p < 0,05$ , рис. 3.20, 3.21, 3.23).

На 3-тю добу в контрольній групі порожнина рани досягала м'язового шару та була вкрита великою кількістю некротичних мас та клітинним детритом (рис. 3.26). Зберігався набряк дерми та підшкірної клітковини, відмічалось значне повнокрів'я судин (особливо капілярів) з явищами стазу, тромбозу та ділянками крововиливів; простежувалася дифузна лейкоцитарна інфільтрація. Глибше розташовані тканини з вираженим набряком та вогнищевими крововиливами були рясно інфільтровані сегментоядерними лейкоцитами.

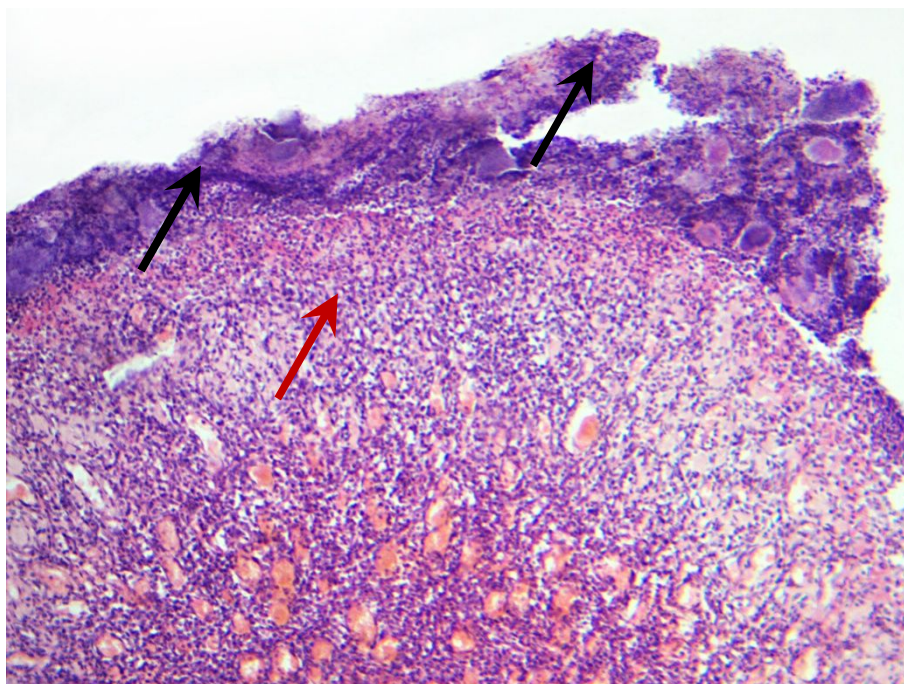


Рис. 3.26 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на третю добу експерименту в контрольній групі. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некротичні тканини;  $\color{red}\rightarrow$  – запальна інфільтрація

На 7-му добу в підгрупі НЧС відторгнення струпу завершилось, однак ще були помітні скупчення фібрину та діapedез еритроцитів. По краям рани виднілись колагенові волокна з хаотично розташованими фібробластами, що вказувало на репаративні процеси. Зберігалася



інфільтрація тканин із помірною кількістю нейтрофілів, макрофагів та лімфоцитів, проте була виражена в меншій мірі, ніж в контрольній групі (рис. 3.27). Спостерігалось утворення нових судин та молодого грануляційної тканини, яка вистилала дно рани. У товщі грануляційної тканини траплялись острівки жирових клітин. Процес загоєння знаходився у стадії регенерації.

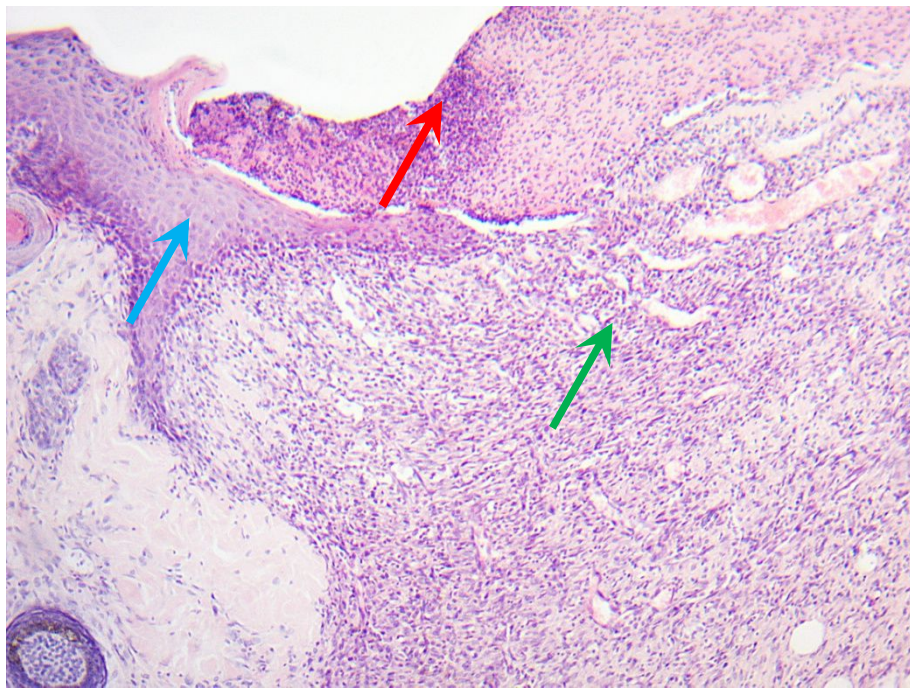


Рис. 3.27 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на сьому добу експерименту в підгрупі НЧС. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . → – запальна інфільтрація; → – грануляційна тканина; → – епітелій

ВПСН ( $4,45 \pm 2,82$  %) та ВПСД ( $5,41 \pm 0,25$  %) були достовірно меншими, ніж у контрольній групі ( $15,47 \pm 3,57$  % та  $6,49 \pm 0,55$  % відповідно,  $p < 0,05$ ), а ВПГТ ( $23,19 \pm 1,83$  %) – достовірно більшою, порівняно з контролем ( $5,3 \pm 1,41$  %),  $p < 0,05$ , (рис. 3.20, 3.21, 3.23).

У підгрупі УЗ на 7-му добу порожнина рани була заповнена грануляційною тканиною, у якій спостерігались заповнені ендотелієм овальні просвіти (рис. 3.28). На поверхні рани – незначна кількість детриту,

відмічалось «наповнення» на грануляційну тканину епітеліальних клітин з ознаками проліферативної активності; під багатошаровим плоским епітелієм були хаотично розташовані колагенові волокна. У середніх і глибоких шарах рани визначалася майже зріла сполучна тканина. Місцями визначався незначний набряк підлеглих тканин з помірним повнокрів'ям судин та зміною нейтрофільно-лейкоцитарної інфільтрації на макрофагально-гістіоцитарну. Встановлено значне скупчення гістіоцитів, фібробластів, ниток фібрину, а також – макрофагів.

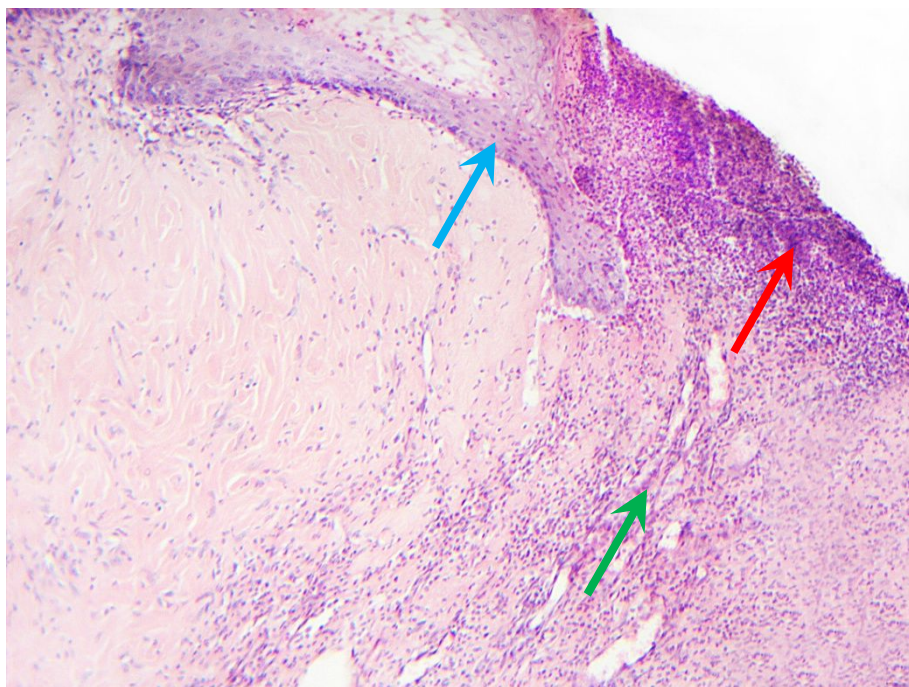


Рис. 3.28 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на сьому добу експерименту в підгрупі УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . **→** – запальна інфільтрація; **→** – грануляційна тканина; **→** – епітелій

ВПСН ( $6,45 \pm 0,18$  %), ВПСД ( $5,35 \pm 0,69$  %) були достовірно ( $p < 0,05$ ) меншими за показники групи контролю, а ВПГТ ( $23,19 \pm 1,83$  %) – достовірно більшою ( $p < 0,05$ , рис. 3.20, 3.21, 3.23). У підгрупі УЗ зменшувався стромальний набряк, повнокрів'я судин та відповідно їх

діаметр; дозрівання грануляційної тканини супроводжувалось активним ростом новоутворених судин.

Таким чином, дані гістологічних досліджень у підгрупах НЧС та УЗ на 7-му добу свідчать про вщухання запального процесу, формування повноцінної грануляційної тканини з ознаками крайової епітелізації.

В підгрупі НЧС/УЗ на 7-му добу поверхня рани була повністю виповнена молодою грануляційною тканиною (рис. 3.29). При гістологічному дослідженні в краях ранового дефекту відмічалось прискорене «наповзання» епітелію на грануляції. Поверхня рани була вкрита дозріваючою сполучною тканиною, в якій знаходилась помірна кількість горизонтально орієнтованих колагенових волокон, фіброblastів і макрофагів. У більш глибоких шарах спостерігалась значна кількість висланих ендотелієм каналів, заповнених еритроцитами. Порівняно з 3-ю добою, серед клітин грануляційної тканини визначалась помітно більша кількість моноцитів, лімфоцитів, макрофагальних елементів та фіброblastів. Бактерії, детрит та запальні явища були відсутні.

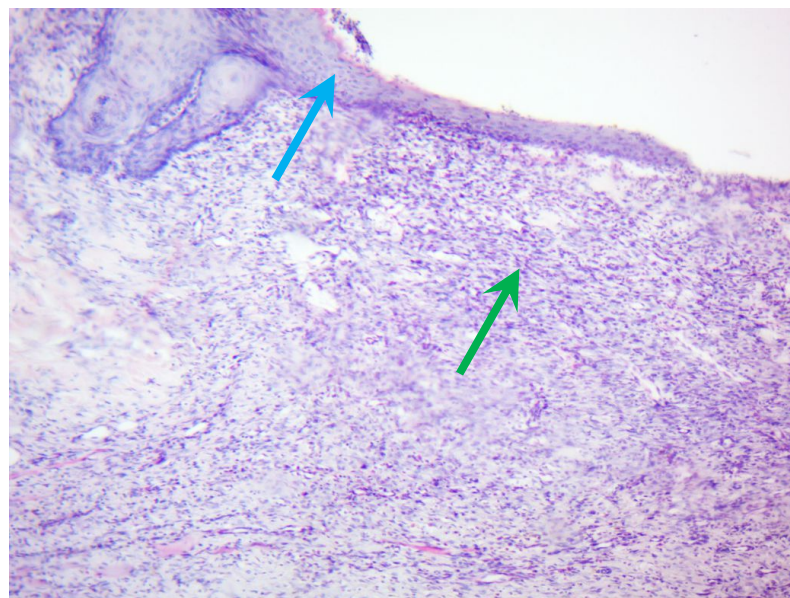


Рис. 3.29 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на сьому добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Зabarвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\rightarrow$  – грануляційна тканина;  $\rightarrow$  – епітелій

ВПСН ( $7,4 \pm 0,18 \%$ ) була в 2 рази меншою порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), однак не мала достовірної різниці з підгрупами УЗ та НЧС ( $p > 0,05$ , рис. 3.20). ВПСД ( $5,28 \pm 0,18 \%$ ) була меншою від групи контролю в 1,2 рази ( $p < 0,05$ ), та не мала достовірної різниці з підгрупами УЗ та НЧС ( $p > 0,05$ , рис. 3.21). ВПГТ ( $37,43 \pm 1,67 \%$ ) була більшою в 7,1 раз, ніж у контрольній групі, та в 1,6 рази, ніж у підгрупах НЧС та УЗ ( $p < 0,05$ , рис. 3.23).

На 7 добу в контрольній групі в зоні ранового дефекту зберігалися залишки гнійно-некротичного вмісту (рис. 3.30). Краї рани, оточені набряклими тканинами, різко виступали над струпом, під яким починалася нерівномірно дозріваюча сполучна тканина з дрібними ділянками фібриноїдних змін. При натисканні з-під струпа видавлювався серозно-гнійний ексудат. На поверхні ран зберігалася значна кількість зруйнованих лейкоцитів. Порожнина рани була заповнена значною кількістю клітинного детриту з поліморфноядерними лейкоцитами.

Між лейкоцитарно-некротичним шаром і підлеглими тканинами з'явилися макрофагально-гістіоцитарні елементи. У глибоких шарах зберігалася застійне повнокрів'я судин мікроциркуляторного русла, тканини були набряклі з дрібними крововиливами. Глибокі шари м'язів були дистрофічно змінені: спостерігалася грубозерниста дистрофія м'язових волокон з нерівномірним забарвленням еозином та явищами лізису в ядрах. У міжклітинних прошарках спостерігалася велика кількість лейкоцитів. В окремих полях зору почали з'являтися дрібні острівці грануляційної тканини із проліферуючих фібробластів веретеноподібної форми, які супроводжувалися капілярами.

На 14-ту добу, в підгрупі НЧС була вже сформована зріла грануляційна тканина з численними проліферуючими веретеноподібними та полігональними фібробластами, спостерігалася активна епітелізація (рис. 3.31). Лімфогістіоцитарна інфільтрація була відсутня. Процес переходив у заключну стадію загоєння рани – формування рубця.

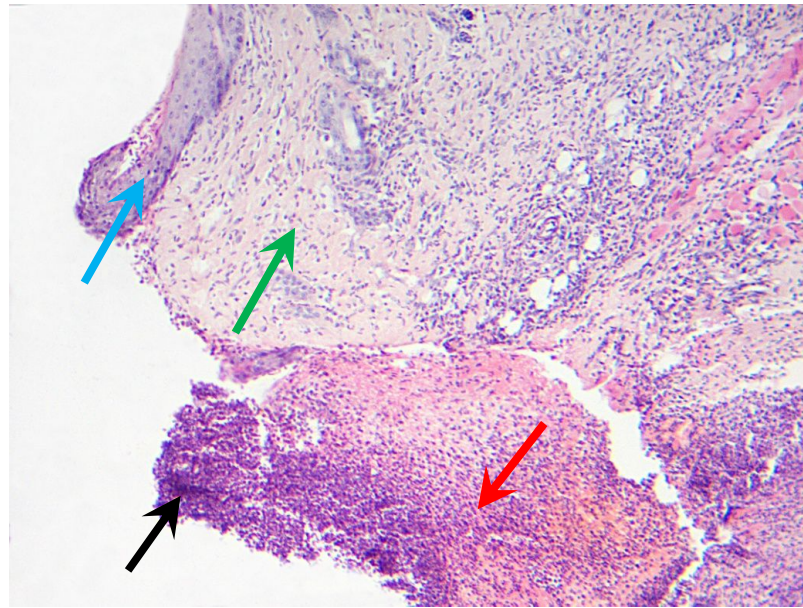


Рис. 3.30 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на сьому добу експерименту в контрольній групі. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некротичні тканини;  $\redrightarrow$  – запальна інфільтрація;  $\greenrightarrow$  – грануляційна тканина;  $\bluerightarrow$  – епітелій

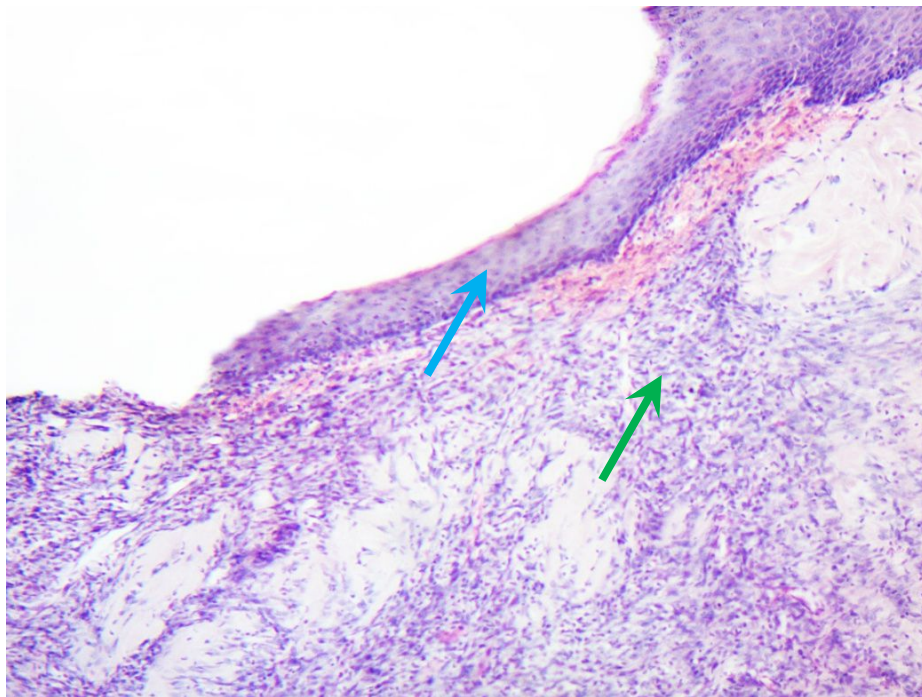


Рис. 3.31 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на 14-ту добу експерименту в підгрупі НЧС. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\greenrightarrow$  – грануляційна тканина;  $\bluerightarrow$  – епітелій

ВПСН ( $3,53 \pm 1,57 \%$ ) виявилася в 2,4 рази меншою ( $p < 0,05$ ), порівняно з контрольною групою ( $8,57 \pm 3,7 \%$ , рис. 3.20). ВПСД ( $5,32 \pm 0,17 \%$ ) була достовірно ( $p < 0,05$ ) меншою, а ВПГТ ( $35,56 \pm 2,58 \%$ ) – достовірно ( $p < 0,05$ ) більшою, ніж показники контрольної групи ( $6,26 \pm 0,35 \%$  та  $21,48 \pm 1,48 \%$  відповідно, рис. 3.21, 3.23).

У підгрупах УЗ та НЧС/УЗ на 14-ту добу спостерігався рубець з ділянками грубоволокнистої пухкої та щільної сполучної тканини (рис. 3.32, 3.33). У щільній сполучній тканині мала місце невелика кількість ядер, які були орієнтовані за напрямком рубця. У пухкій сполучній тканині клітинний склад був поліморфним: фібробласти, фіброцити, плазматичні клітини, незначна кількість лейкоцитів. Подібні скупчення траплялися переважно поблизу дрібних кровоносних судин. Явища набряку та запальної інфільтрації були повністю відсутні. Весь рубець, у порівнянні з навколишніми тканинами, був незначно втягнутий. Рубцева деформація в підгрупі НЧС/УЗ була виражена в меншій мірі.

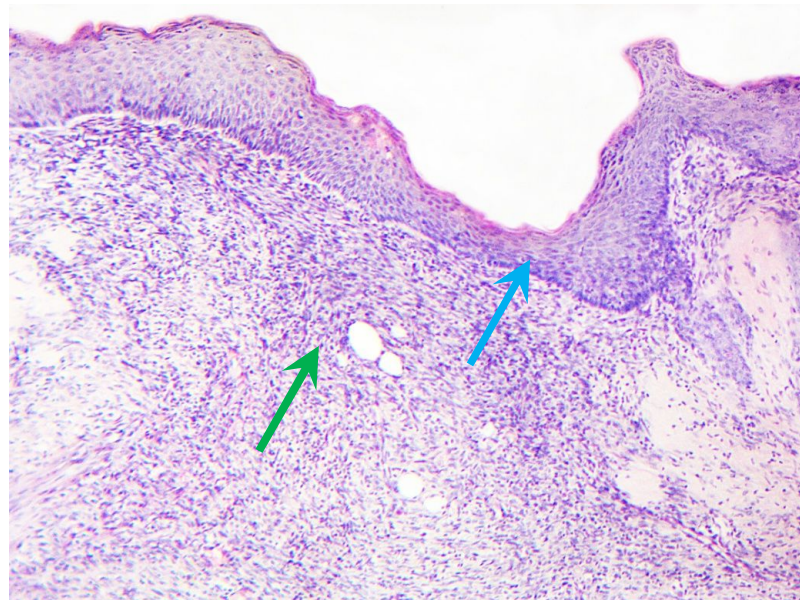


Рис. 3.32 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на 14-ту добу експерименту в підгрупі УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\rightarrow$  – грануляційна тканина;  $\rightarrow$  – епітелій

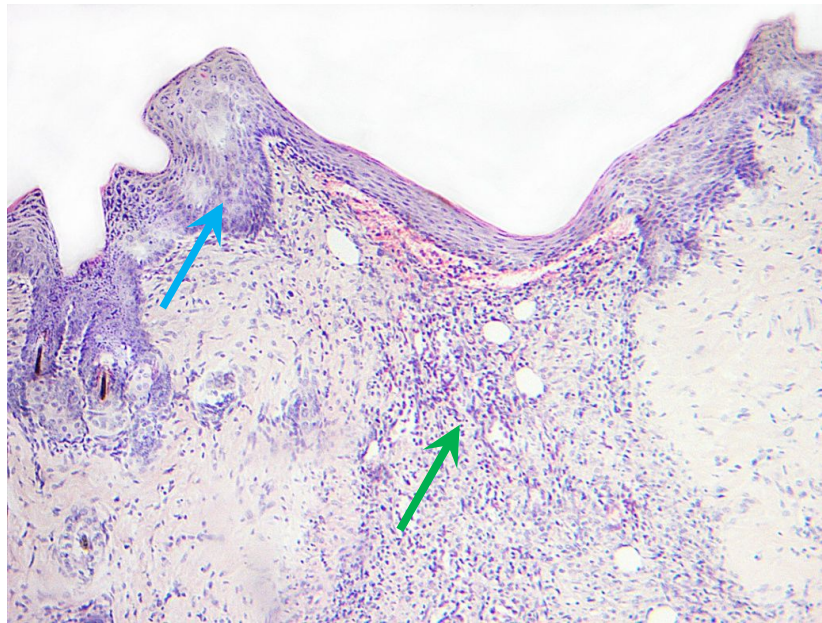


Рис. 3.33 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на 14-ту добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\rightarrow$  – грануляційна тканина;  $\rightarrow$  – епітелій

Стромальний набряк в підгрупах УЗ та НЧС/УЗ був відсутній, проте ВПСД в підгрупах УЗ ( $5,36 \pm 0,15$  %) та НЧС/УЗ ( $5,49 \pm 0,15$  %) були достовірно меншими ( $p < 0,05$ ), а ВПГТ ( $40,52 \pm 0,65$  %;  $44,19 \pm 2,02$ , відповідно) – достовірно більшою ( $p < 0,05$ ), у порівнянні з групою контролю (рис. 3.20, 3.21, 3.23). ВПГТ у підгрупі НЧС/УЗ, у свою чергу, була достовірно більшою, ніж у підгрупах НЧС та УЗ ( $p < 0,05$ , рис. 3.23).

На 14-ту добу в контрольній групі навколо рани місцями з'являвся тонкий багатошаровий плоский епітелій, зберігався незначний набряк та повнокрів'я тканин з макрофагально-гістіоцитарним компонентом (рис. 3.34). Порівняно з 7-ю добою лейкоцитарно-некротична зона була відсутня. Спостерігалась виражена проліферативна активність базальних шарів епідермісу та розвиток сполучної тканини як у дермі, так і в підшкірній жировій клітковині. Збільшилась площа ділянок грануляційної тканини, яка була подекуди зі скупченнями клітинного детриту. Глибокі шари м'язів були дистрофічно змінені, з явищами лізису клітин та меншою кількістю

лейкоцитів у міжм'язових прошарках. Простежувалися зміни гісто-морфометричних показників відповідно до стадії загоєння ран (рис. 3.20, 3.21, 3.23).

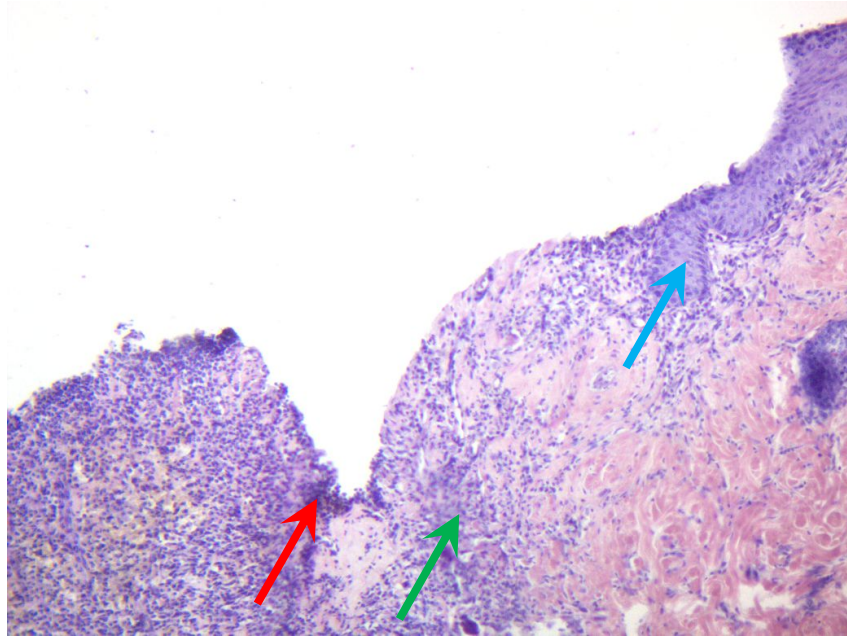


Рис. 3.34 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура на 14-ту добу експерименту в контрольній групі. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . → – запальна інфільтрація; → – грануляційна тканина; → – епітелій

Отже, аналіз гістологічного дослідження та морфометричних показників вказує на значно активніші процеси загоєння ран у підгрупах НЧС/УЗ, НЧС та УЗ, порівняно з контрольною групою із застосуванням хлоргексидину, причому процеси загоєння в підгрупі НЧС/УЗ були кращими, порівняно з монотерапією НЧС та УЗ. У підгрупах НЧС/УЗ, НЧС та УЗ відбувалося більш швидке очищення ран від гнійно-некротичних тканин, зменшення лейкоцитарної та лімфогістіоцитарної інфільтрації, стромального набряку, повнокрів'я судин; дозрівання сполучної тканини та утворення нового епітеліального шару було більш активним.



### 3.5.2 Патогістологічне дослідження гнійних ран, що тривало не загоюються

На першу добу в усіх групах у ранах були всі ознаки тривалого гнійного запалення (рис. 3.35). Поверхні ран були вкриті фібрином та детритом, під яким визначалися скупчення лейкоцитів у стані розпаду та геморагічні ділянки. По краям ран спостерігалися виражені некротичні зміни епідермісу, сосочкового та сітчастого шару дерми, гіподерми а також волосяних фолікулів, потових та сальних залоз. Тканини навколо ран були набряклі з вираженими ознаками лейкоцитарної інфільтрації, епітелій – потовщений. Колагенові волокна в межах дерми – набряклі, судини дерми – повнокровні та розширені. Набряк та інфільтрація проникали глибоко до дистрофічно-зміненого м'язового шару.

Морфометричні показники в усіх групах достовірно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ), (рис. 3.36, 3.37).

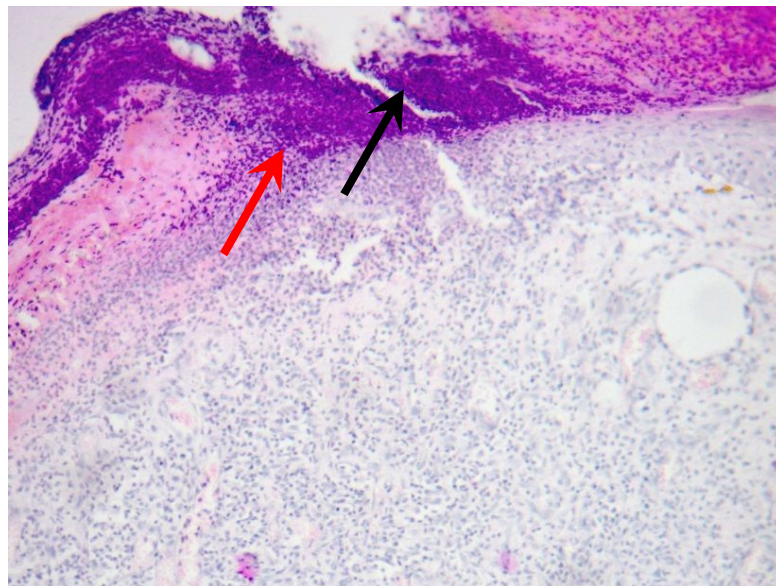


Рис. 3.35 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на першу добу експерименту. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некроз;  $\color{red}\blackrightarrow$  – запальна інфільтрація.

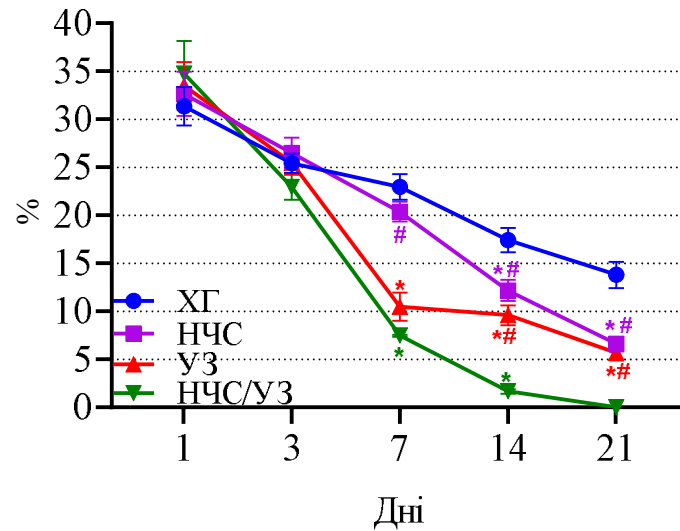


Рис. 3.36 – ВПСН, %. \* – достовірна різниця в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця в порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

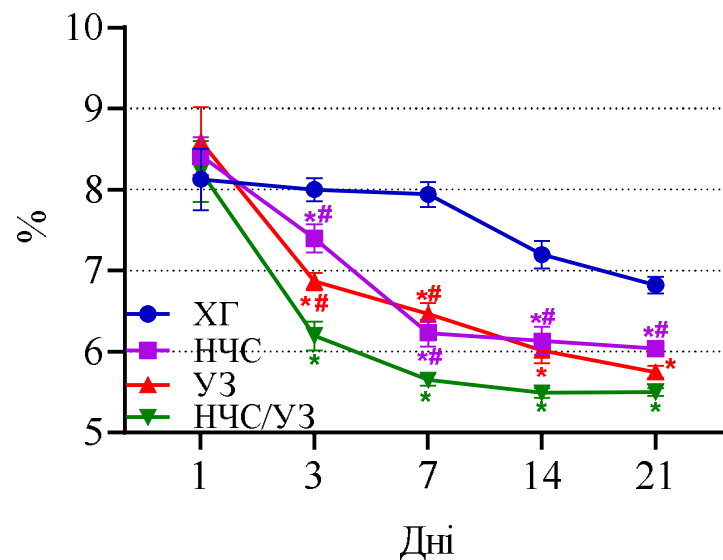


Рис. 3.37 – ВПСД, %. \* – достовірна різниця в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця в порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

На 3-тю добу в групі НЧС (рис. 3.38) гістологічна картина характеризувалась яскраво вираженим гнійним процесом та запальними змінами в ділянці дна та країв ран з численними нейтрофільними

лейкоцитами та лімфоцитами. Рана була заповнена гнійно-некротичними масами. Краї епідермісу – потовщені, вкриті тонким шаром фібрину та спрямовані в просвіт рани. У дермі – виражена ексудативна реакція, запальна інфільтрація, значний набряк з повнокрів'ям капілярів та численними вогнищами крововиливів. На дні рани спостерігалися фрагменти колагенових волокон в оточенні клітин запального ряду. Запальна реакція супроводжувалася збільшенням кількості опасистих клітин. У якісному відношенні не спостерігалось істотних морфологічних відмінностей від контрольної групи.

ВПСН становила  $26,49 \pm 3,87 \%$ , та статистично достовірно ( $p > 0,05$ ) не відрізнялась від показників контрольної групи ( $25,44 \pm 2,52 \%$ , рис. 3.36). Показник ВПСД ( $7,4 \pm 0,41 \%$ ) достовірно ( $p < 0,05$ ) був меншим від групи контролю ( $8,0 \pm 0,35 \%$ ), (рис. 3.37).

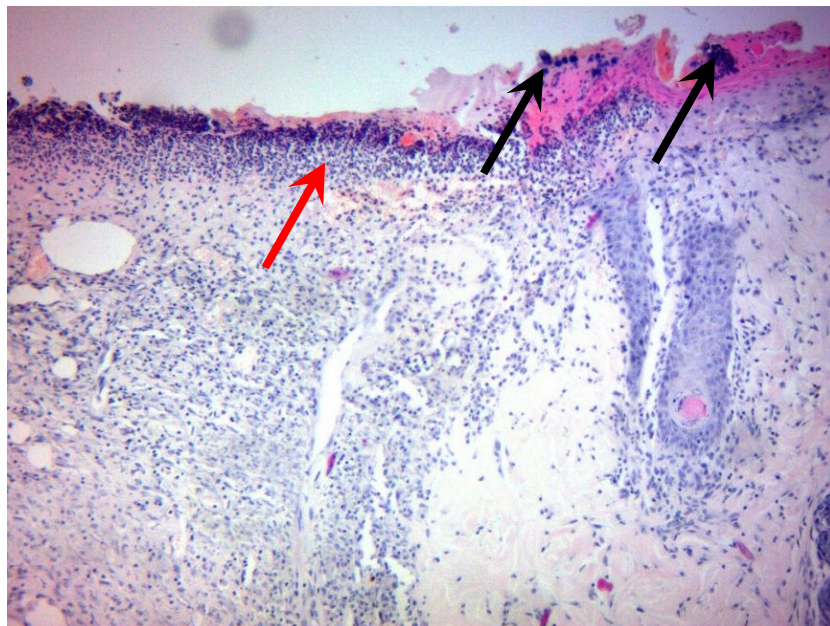


Рис. 3.38 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на третю добу експерименту в підгрупі НЧС. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некротичні тканини;  $\color{red}\blackrightarrow$  – запальна інфільтрація

На 3-тю добу в групі УЗ (рис. 3.39) рани були заповнені безструктурним гнійно-некротичним вмістом, крайовий епідерміс був некротизований та інфільтрований дегенеративно-зміненими нейтрофілами, однак прояви інфільтративно-запальної реакції були менші, ніж у контрольній групі. У ділянках дна та країв ран розташовувались деформовані колагенові волокна. У дермі відмічався інтерстиційний набряк, виражена інфільтрація тканин клітинами запального ряду на тлі дрібновогнищевих крововиливів і повнокровних розширених капілярів. Інфільтрація поширювалася на всю товщину шкіри, підшкірну жирову клітковину та м'язи; була помітна опасистоклітинна популяція. У цілому, рани морфологічно не відрізнялися від контрольної групи, але набряк та інфільтрація на рівні дерми були менш виражені.

ВПСН ( $25,5 \pm 3,19 \%$ ) не мала достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) з контрольною групою (рис. 3.36), проте ВПСД ( $6,87 \pm 0,26 \%$ ) була достовірно ( $p < 0,05$ ) меншою від групи контролю (рис. 3.37).



Рис. 3.39 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на третю добу експерименту в підгрупі УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некротичні тканини;  $\color{red}\rightarrow$  – запальна інфільтрація

На 3-тю добу в підгрупі НЧС/УЗ спостерігалось зменшення вмісту гнійно-некротичних мас (рис. 3.40). У ділянці дерми визначалася міграція лейкоцитів, що зумовлювала запальну інфільтрацію тканин. Запальні процеси були менш виражені, порівняно з контрольною групою: клітинний компонент був представлений переважно клітинами запального ряду – нейтрофілами, лімфоцитами та макрофагами. Підвищення судинної проникності призводило до виникнення набряку в інтерстиційному просторі. У глибоких шарах дерми колагенові волокна – розсунуті за рахунок ексудату. Судинна реакція проявлялася розширенням просвіту судин, в яких визначався стаз формених елементів. Для підгрупи НЧС/УЗ на 3-тю добу було притаманне збільшення загального числа опасистих клітин, що перевищувало аналогічний показник у контрольній групі. Грануляційна тканина ще була відсутня.

ВПСН ( $22,98 \pm 3,25$  %) не мала достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) з контрольною групою та підгрупами НЧС та УЗ (рис. 3.36), однак ВПСД ( $6,2 \pm 0,43$  %) достовірно ( $p < 0,05$ ) була меншою, порівняно з групою контролю, а також підгрупами НЧС та УЗ (рис. 3.37).

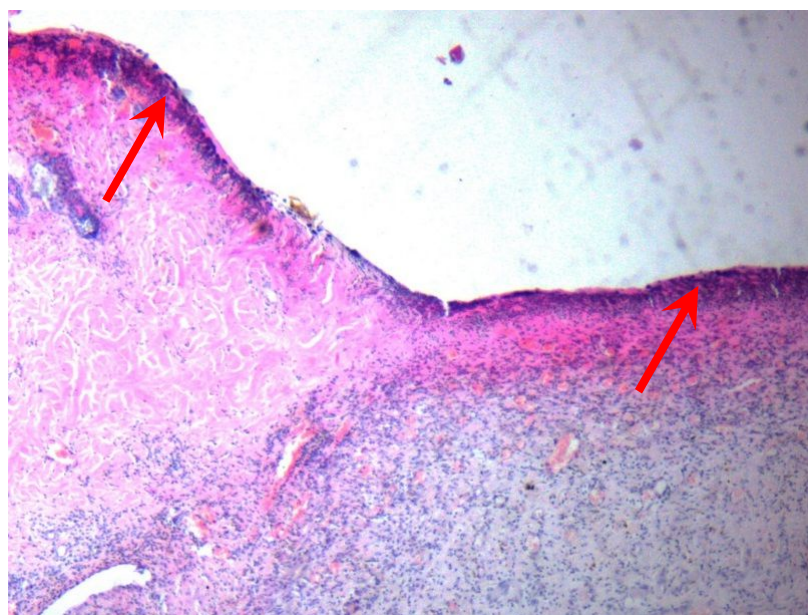


Рис. 3.40 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на третю добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\rightarrow$  – запальна інфільтрація

На 3-тю добу в контрольній групі рани були заповнені гнійно-некротичними масами, оточуючі тканини – з вираженими явищами запалення (рис. 3.41). Запальний інфільтрат містив лейкоцити, полібласти, плазматичні клітини та макрофаги. Лейкоцитарна інфільтрація розповсюджувалася на всі шари шкіри. Судинна реакція характеризувалась розширенням капілярів зі стазом еритроцитів. У стінці та дні ран були видні шматки травмованих волокон із інтерстиційним набряком, між волокнами – клітини запального ряду. В опасистоклітинній популяції переважали дегранульовані клітини.

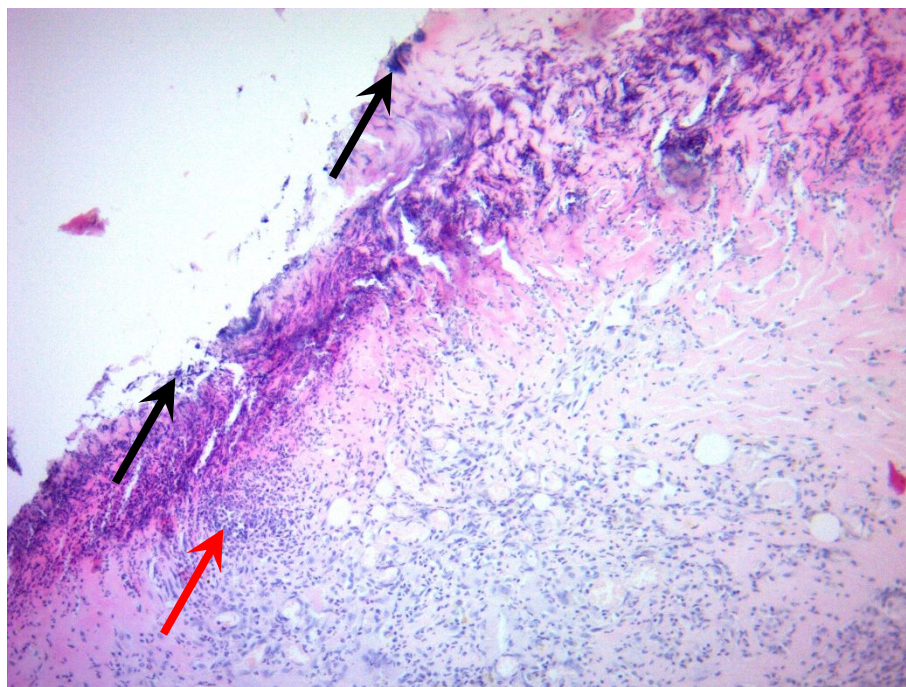


Рис. 3.41 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на третю добу експерименту в контрольній групі. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некротичні тканини;  $\color{red}\rightarrow$  – запальна інфільтрація

На 7-му добу в підгрупі НЧС відзначалося зменшення гнійно-некротичних мас на поверхні ран, однак, у цілому, переважали запальні прояви (рис. 3.40). Крайовий епідерміс – потовщений, містив вакуолізовані клітини, краї та стінки ран були інфільтровані нейтрофільними лейкоцитами, поодинокими макрофагами та опасистими клітинами.

Ознаки формування новоствореного епідермісу ще були відсутні. На дні ран визначалися невеликі ділянки грануляційної тканини. Опасисті клітини активно брали участь у процесах запалення, що проявлялося збільшенням загальної чисельності цих клітин порівняно з попереднім терміном.

ВПСН ( $20,39 \pm 2,53$  %) не мала достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) з контрольною групою ( $22,97 \pm 3,31$  %, рис. 3.36). ВПСД ( $6,23 \pm 0,41$  %) була достовірно меншою ( $p < 0,05$ ), порівняно з групою контролю ( $7,94 \pm 0,38$  %), а ВПГТ становила  $5,93 \pm 1,99$  %, у той час як у контрольній групі грануляційна тканина ще була відсутня (рис. 3.37, 3.43).

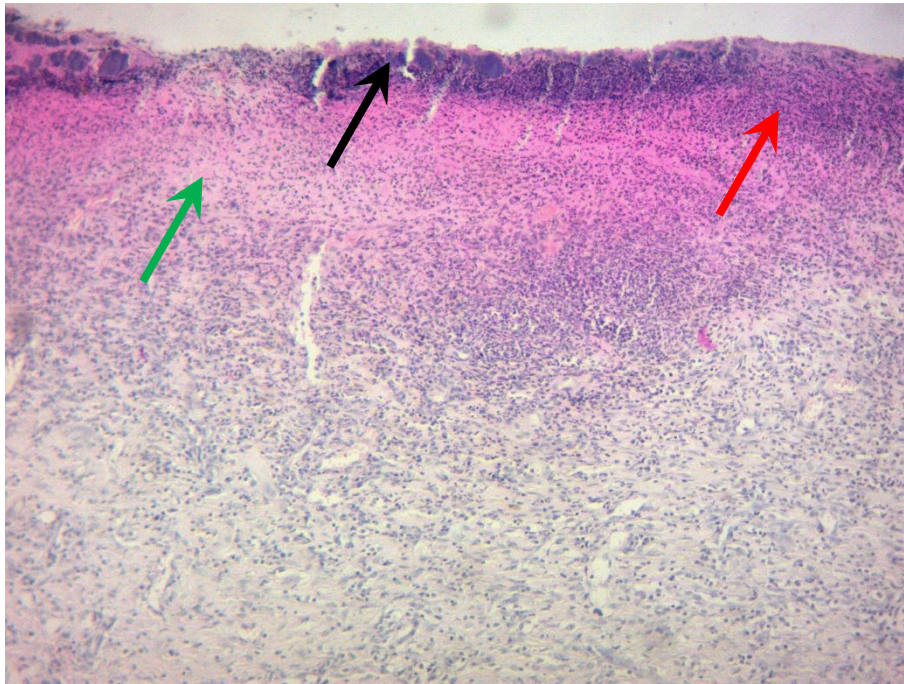


Рис. 3.42 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на сьому добу експерименту в підгрупі НЧС. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некротичні тканини;  $\redrightarrow$  – запальна інфільтрація;  $\greenrightarrow$  – грануляційна тканина

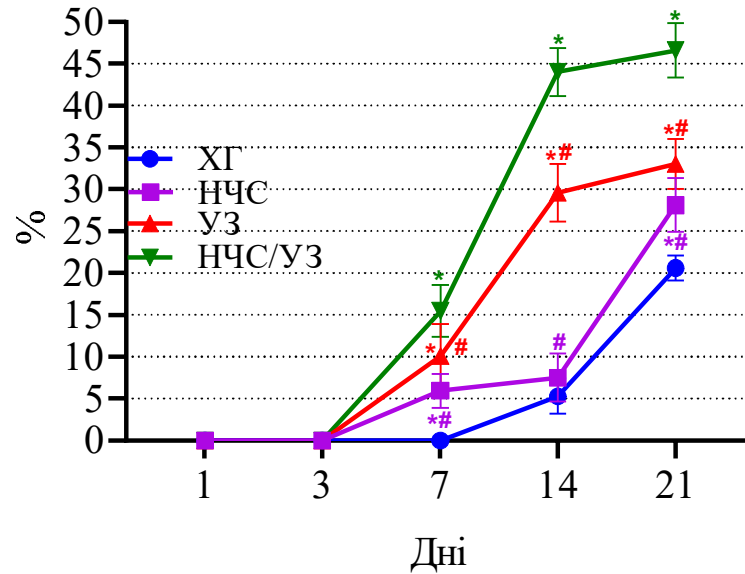


Рис. 3.43 – ВПГТ, %. \* – достовірна різниця в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), # – достовірна різниця в порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ )

У підгрупі УЗ на 7-му добу дно ран було вкрите шаром гнійного ексудату, на поверхні дерми – тонкий шар фібрину, проте очищення поверхні рани було більш виражене, ніж у контрольній групі (рис. 3.44). По периферії дефекту починав формуватися демаркаційний вал, який відмежовував життєздатні та некротизовані тканини. Краї ран – подекуди з ділянками некрозу, інфільтровані нейтрофільними лейкоцитами та лімфоцитами. У глибині дерми на тлі наявних ділянок запалення з'являлися дрібні фрагменти грануляційної тканини, клітинний компонент якої представлений переважно фібробластами, макрофагами та опасистими клітинами. У деяких препаратах відзначався тонкий епідермальний пласт, спрямований у бік дефекту тканин.

ВПСН ( $10,48 \pm 3,58$  %) та ВПСД ( $6,46 \pm 0,33$  %) були достовірно меншими ( $p < 0,05$ ), ніж в контрольній групі, а ВПГТ ( $10,06 \pm 3,86$  %) – достовірно більшою ( $p < 0,05$ , рис. 3.36, 3.37, 3.43).



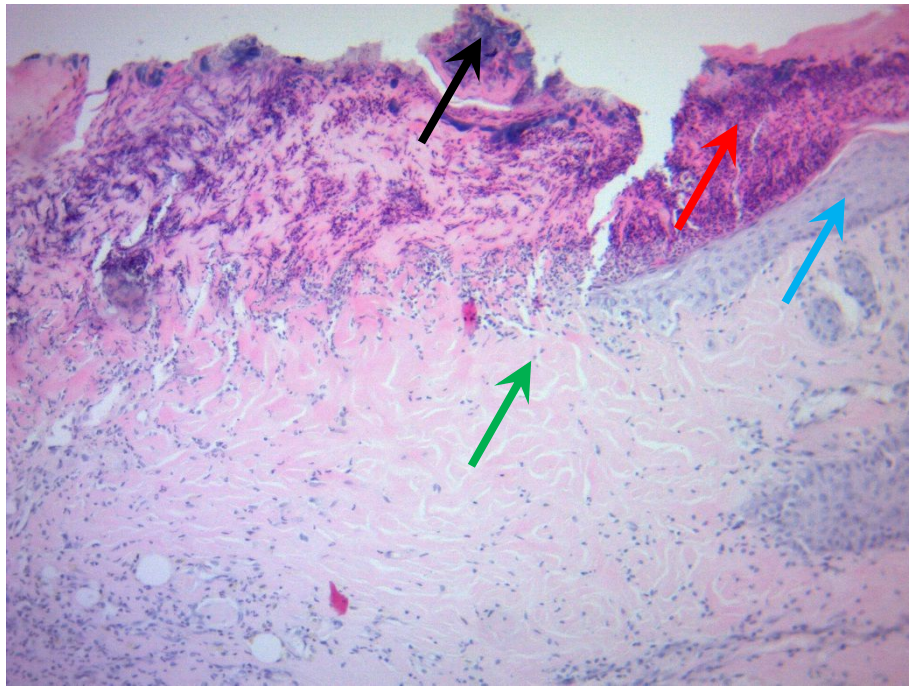


Рис. 3.44 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на сьому добу експерименту в підгрупі УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некротичні тканини;  $\color{red}\rightarrow$  – запальна інфільтрація;  $\color{green}\rightarrow$  – грануляційна тканина;  $\color{blue}\rightarrow$  – епітелій

В підгрупі НЧС/УЗ на 7-му добу відзначалося зменшення некротичного вмісту, траплялися поодинокі ділянки з фібрином (рис. 3.45). Інколи був помітний крайовий епітелій, що «наповзав» від периферії до дна рани, яке, в свою чергу, було вкрите фібринозно-лейкоцитарним шаром. Запальна інфільтрація в межах дерми була представлена не лише лейкоцитами, а й поодинокими макрофагами. Дно рани було вкрите молодою грануляційною тканиною з тонкими пучками колагенових волокон. Поміж клітинних елементів, поряд з клітинами запального ряду, збільшувався вміст опасистих клітин, гістіоцитів та фібробластів. Опасисті клітини активно брали участь у пригніченні запалення, що проявлялося збільшенням загальної чисельності цих клітин порівняно з попереднім терміном.

ВПСН ( $7,48 \pm 0,28$  %) була в 3,1 рази меншою, порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), та в 2,7 рази – порівняно з підгрупою НЧС, однак не мала достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) з підгрупою УЗ (рис. 3.36).

ВПСД ( $5,65 \pm 0,18$  %) була меншою, ніж в групі контролю, в 1,4 рази ( $p < 0,05$ ), а також достовірно меншою, порівняно з підгрупами УЗ та НЧС ( $p < 0,05$ , рис. 3.37). ВПГТ ( $15,48 \pm 3,13$  %) була в 2,6 рази більшою, ніж у підгрупі НЧС, та в 1,5 рази більшою, ніж у підгрупі УЗ ( $p < 0,05$ , рис. 3.43).

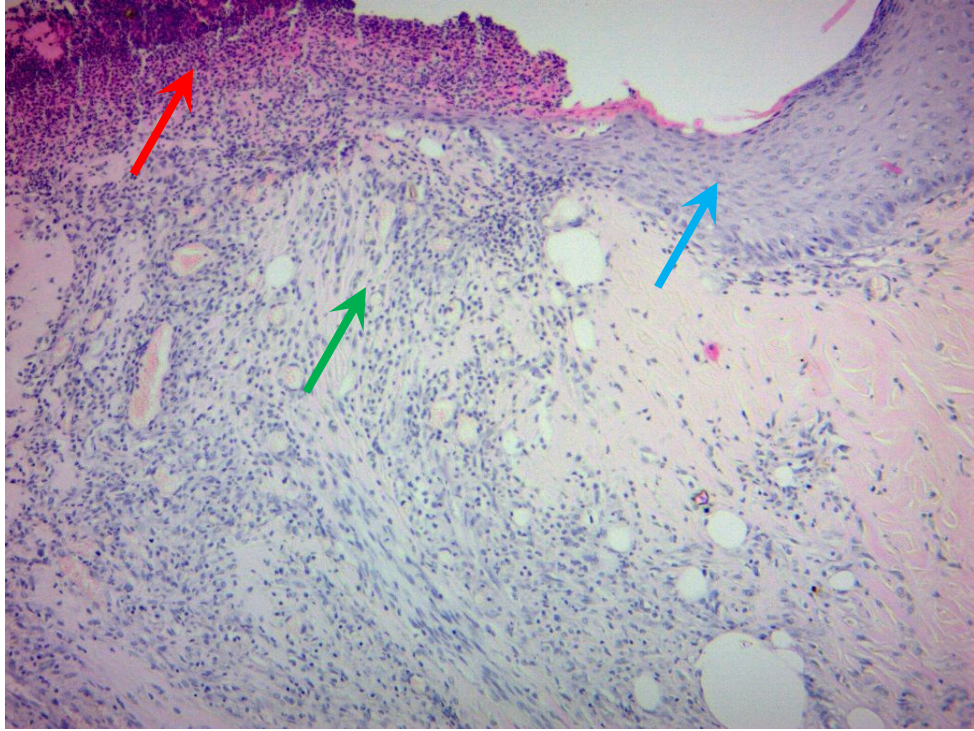


Рис. 3.45 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на сьому добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . → – запальна інфільтрація; → – грануляційна тканина; → – епітелій

На 7-му добу в контрольній групі зафіксовано характерне зменшення фібринозно-лейкоцитарних мас, порівняно з попереднім періодом, однак гнійно-некротичні нашарування вкривали крайовий епідерміс і заповнювали дно ран (рис. 3.46). По краям відзначався виражений інтерстиційний запальний набряк у межах дерми, судини – розширені з явищами стазу еритроцитів. Запальний інфільтрат проникав у глибокі шари дерми та був представлений переважно лейкоцитами та макрофагами. Лейкоцитарна фаза регенеративного запалення поступово змінювалася на макрофагальну. У

ділянці дна рани починала формуватися грануляційна тканина, серед якої траплялися скупчення лейкоцитів.

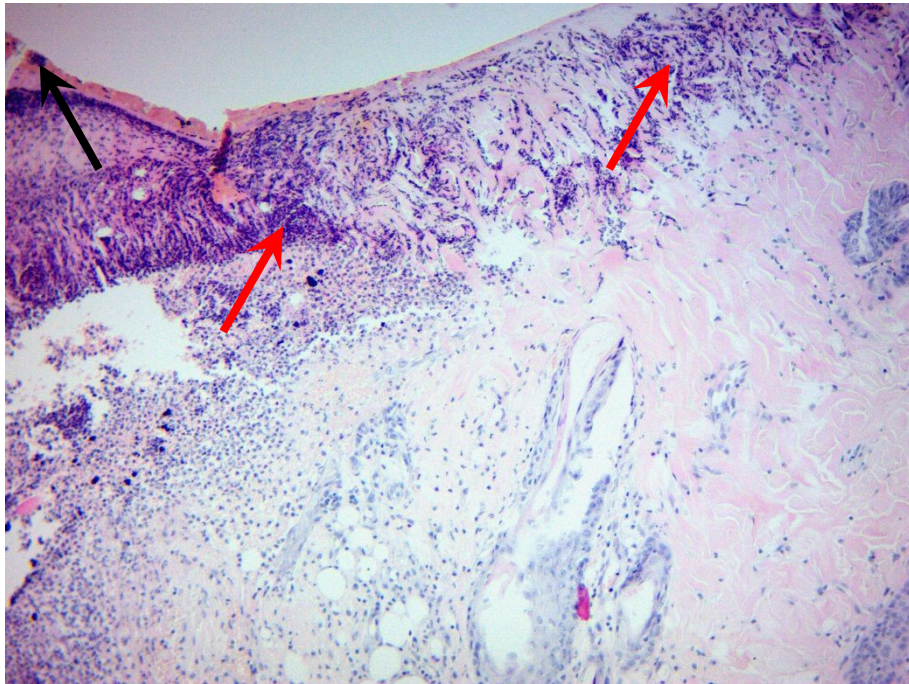


Рис. 3.46 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на сьому добу експерименту в контрольній групі. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некротичні тканини;  $\color{red}\rightarrow$  – запальна інфільтрація

На 14-ту добу в підгрупі НЧС на поверхні ран пласт епітеліальних клітин «наповзав» на інфільтрований лейкоцитами шар тканин (рис. 3.47). В субепідермальному шарі також траплялися скупчення лейкоцитів. Дифузна поліморфноклітинна інфільтрація поширювалася на всю дерму навколо ранової ділянки. У дермі навколо рани спостерігалися тонкі колагенові волокна. Волокнистий компонент оточували макрофаги, опасисті клітини та фібробласти. Рани відрізнялися значним вмістом грануляційної тканини з клітинними елементами не лише запального, але й проліферативного ряду. Клітини запального ряду були представлені лейкоцитами та макрофагами; крім того, траплялися фібробласти та гістіоцити. У ділянці дна рани

з'являлися новоутворені судини та розросталися осередки грануляційної тканини.

ВПСН ( $12,19 \pm 2,68$  %) виявилася в 1,4 рази меншою ( $p < 0,05$ ), порівняно з контрольною групою ( $17,42 \pm 3,16$  %, рис. 3.36). ВПСД ( $6,13 \pm 0,43$  %) була достовірно меншою за аналогічний показник контрольної групи ( $7,2 \pm 0,42$  %,  $p < 0,05$ ), а ВПГТ ( $7,53 \pm 2,88$  %) не мала достовірної різниці із групою із застосуванням Хлоргексидину ( $5,28 \pm 2,11$  %),  $p > 0,05$ , (рис. 3.37, 3.43).

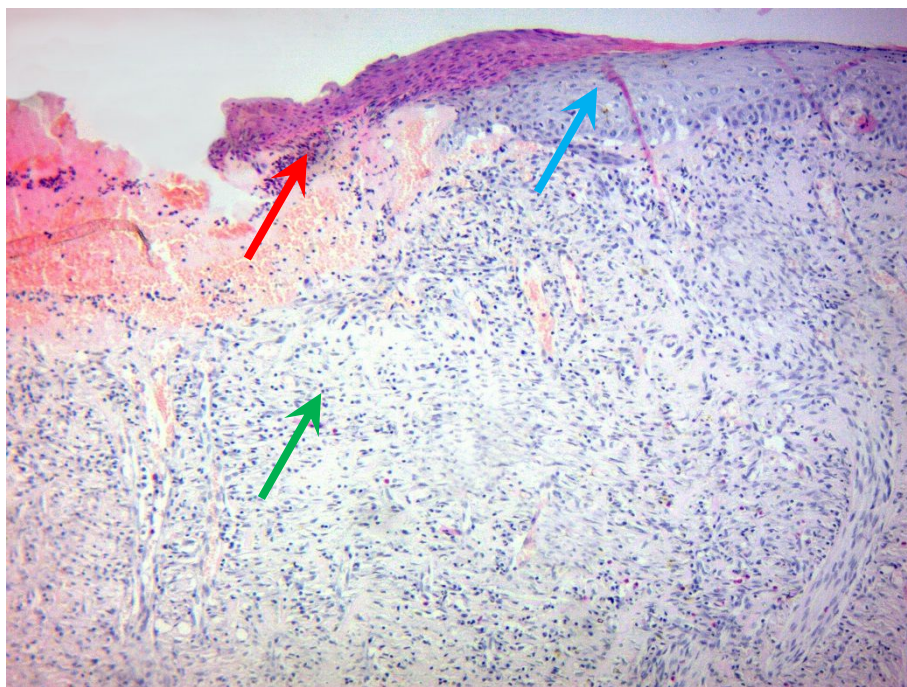


Рис. 3.47 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на 14-ту добу експерименту в підгрупі НЧС. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\rightarrow$  – грануляційна тканина;  $\rightarrow$  – запальна інфільтрація;  $\rightarrow$  – епітелій

На 14-ту добу в підгрупі УЗ рани були без гнійно-некротичних тканин (рис. 3.48). У крайових ділянках визначався потовщений епітеліальний пласт без ознак дезорганізації та набряку, у межах дерми – слабо виражена запальна інфільтрація та явища активного росту і організації сполучної тканини. У цілому, переважали процеси проліферації, що проявлялося

активною епітелізацією ранового дефекту та збільшенням грануляційної тканини, яка містила значну кількість тонких колагенових волокон в оточенні фібробластів. Відмічався підвищений вміст опасистих клітин порівняно з контрольною групою.

ВПСН ( $9,6 \pm 2,47$  %) та ВПСД ( $6,02 \pm 0,4$  %) були достовірно меншими ( $p < 0,05$ ), ніж в контрольній групі, а ВПГТ ( $29,6 \pm 3,43$  %) – достовірно більшою ( $p < 0,05$ , рис. 3.36, 3.37, 3.43).

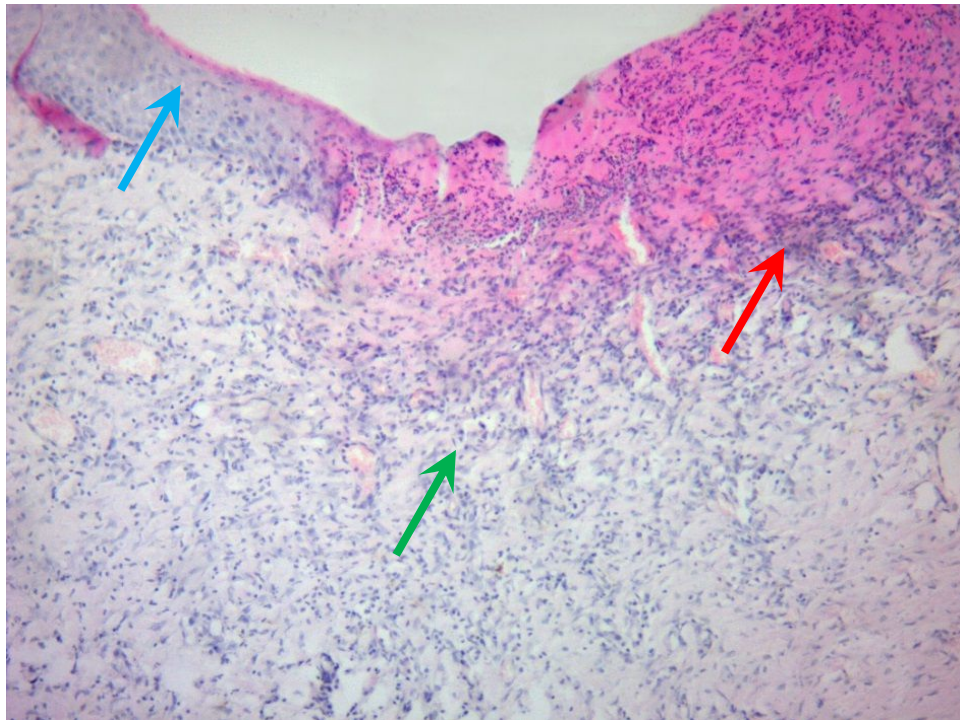


Рис. 3.48 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на 14-ту добу експерименту в підгрупі УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . **→** – запальна інфільтрація; **→** – грануляційна тканина; **→** – епітелій

На 14-ту добу в підгрупі НЧС/УЗ відзначалася виражена проліферація і диференціювання епітеліальної тканини (рис. 3.49). З країв рани на поверхню грануляційної тканини активно наростав епітелій. У порівнянні з контрольною групою відзначалося зменшення запального інфільтрату, однак зберігався незначний набряк у глибоких шарах дерми. Заповнення ранового

дефекту на рівні дерми відбувалося за рахунок клітинного та волокнистого компонентів. Тонкі, хаотично розміщені колагенові волокна мали більш однорідне забарвлення, порівняно з контрольною групою, що свідчило за їх дозрівання. Клітинний компонент був представлений переважно фібробластичним рядом.

ВПСН ( $1,69 \pm 0,56 \%$ ) була в 10,3 разів меншою порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), та в 7,2 і 5,7 разів меншою порівняно з підгрупами НЧС та УЗ ( $p < 0,05$ , рис. 3.36). ВПСД ( $5,49 \pm 0,15 \%$ ) була меншою, ніж у групі контролю, в 1,3 рази ( $p < 0,05$ ), а також достовірно меншою порівняно з підгрупою НЧС ( $p < 0,05$ , рис. 3.37). ВПГТ ( $44,02 \pm 2,9 \%$ ) була в 8,3 разів, 5,8 разів та 1,5 рази більшою, ніж в групі контролю та підгрупах НЧС та УЗ відповідно ( $p < 0,05$ , рис. 3.43).

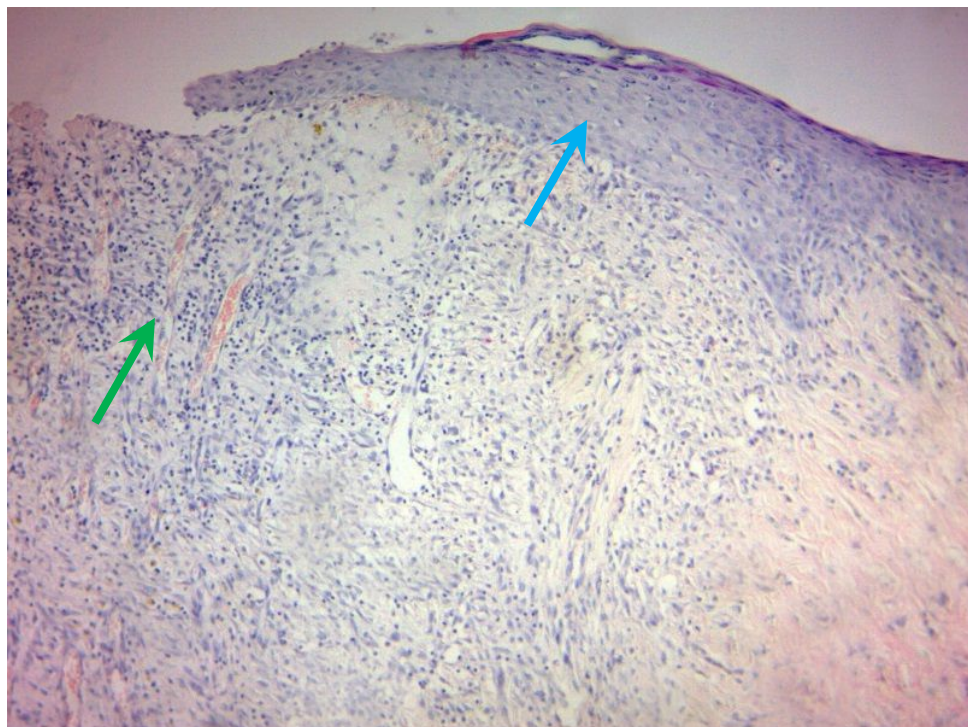


Рис. 3.49 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на 14-ту добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . ➔ – грануляційна тканина; ➔ – епітелій

На 14-ту добу в контрольній групі тонкий пласт епідермісу без ознак стратифікації переміщувався з країв рани. На тлі слабо виражених проліферативних процесів зберігалися залишки гнійно-некротичного вмісту та глибока запальна лейкоцитарна інфільтрація (рис. 3.50). Визначалося формування лейкоцитарного валу з розмитими контурами, що відокремлював зону запалення. Поступово збільшувалася кількість фіброblastів навколо колагенових волокон, які були розташовані хаотично. Грануляційна тканина мала різні ступені зрілості. У підлеглий м'язовій тканині також зберігався запальний набряк та інфільтрація.

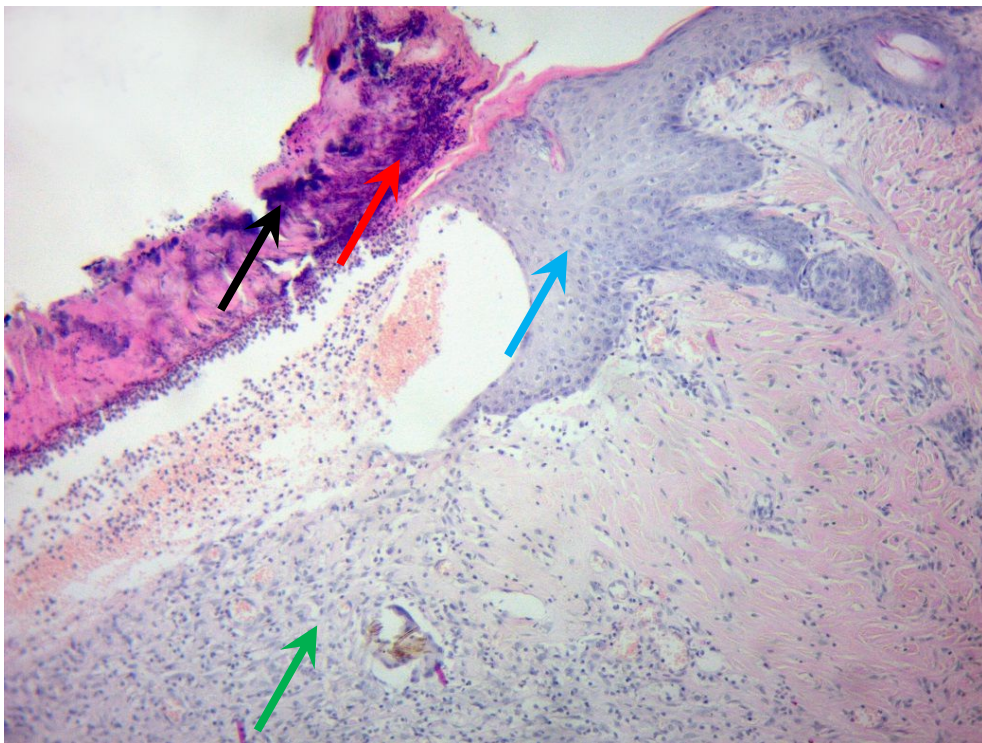


Рис. 3.50 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на 14-ту добу експерименту в контрольній групі. Зabarвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\blackrightarrow$  – некротичні тканини;  $\redrightarrow$  – запальна інфільтрація;  $\greenrightarrow$  – грануляційна тканина;  $\bluerightarrow$  – епітелій

На 21-шу добу в підгрупі НЧС тривали процеси регенерації шкіри, що призводило до майже повного відновлення її цілісності (рис. 3.51). Крайовий епідерміс активно переміщувався на дно ран та мав глибокі

базальні розростання. Грануляційна тканина містила хаотично розташовані колагенові волокна в оточенні клітин запального та проліферативного ряду. У глибоких шарах визначалися поодинокі мікровогнища запальної інфільтрації.

ВПСН ( $6,6 \pm 1,91 \%$ ) та ВПСД ( $6,03 \pm 0,19 \%$ ) виявилися достовірно меншими ( $p < 0,05$ ), ніж у групі контролю ( $13,82 \pm 3,35 \%$  та  $6,82 \pm 0,26 \%$  відповідно), а ВПГТ ( $28,11 \pm 3,21 \%$ ) – достовірно більшою ( $20,6 \pm 1,5 \%$ ),  $p < 0,05$ , (рис. 3.36, 3.37, 3.43).

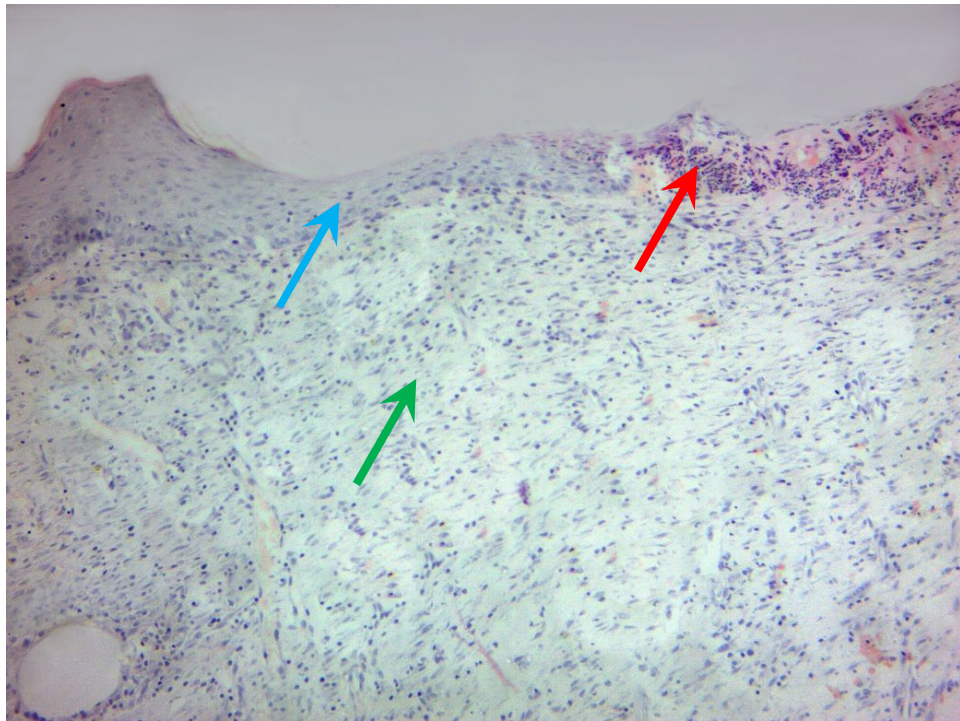


Рис. 3.51 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на 21-шу добу експерименту в підгрупі НЧС. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . **→** – запальна інфільтрація; **→** – грануляційна тканина; **→** – епітелій

На 21-шу добу в підгрупі УЗ переважали проліферативні процеси (рис. 3.52). Визначалася значна протяжність епідермісу, який поширювався від периферії до центру рани. Запальна інфільтрація була майже відсутня, що підтверджувалося незначною кількістю клітин запального ряду. Фібозна



тканина, що заповнювала дно ран, була представлена колагеновими волокнами, орієнтована паралельно поверхні регенерату, а подекуди – хаотично. В глибині дерми визначалися капіляри та колагенові волокна переважно в оточенні фібробластів.

ВПСН ( $5,69 \pm 1,87$  %) та ВПСД ( $5,75 \pm 0,18$  %) виявилися достовірно меншими ( $p < 0,05$ ), ніж аналогічні показники контрольної групи, а ВПГТ ( $33,03 \pm 2,97$  %) – достовірно більшою ( $p < 0,05$ , рис. 3.36, 3.37, 3.43).



Рис. 3.52 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на 21-шу добу експерименту в підгрупі УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ .  $\rightarrow$  – грануляційна тканина;  $\rightarrow$  – епітелій

На 21-шу добу в підгрупі НЧС/УЗ визначалися ділянки сформованого епідермісу, місцями деформованого та з заглибленнями, з чітким диференціюванням шарів та потовщеннями, у порівнянні з інтактною шкірою (рис. 3.53). Базальні кератиноцити були розташовані тісно та мали витягнуту форму, інколи – звивисту. На рівні дерми мала місце зріла

грануляційна тканина зі значною кількістю колагенових волокон, які розташовані переважно паралельно поверхні шкіри. Між колагеновими волокнами знаходилася значна кількість фібробластів. Під рубцем та в навколорановій зоні були видні багаточисленні капіляри.

Стромальний набряк був відсутній (рис. 3.36). ВПСД ( $5,5 \pm 0,13$  %) була меншою ніж у групі контролю в 1,2 рази ( $p < 0,05$ ), а також достовірно меншою порівняно з підгрупою НЧС ( $p < 0,05$ , рис. 3.37). ВПГТ ( $46,59 \pm 3,25$  %) була в 2,3 рази, 1,7 рази та 1,4 рази більшою, ніж у групі контролю та підгрупах НЧС та УЗ ( $p < 0,05$ ), (рис. 3.43).

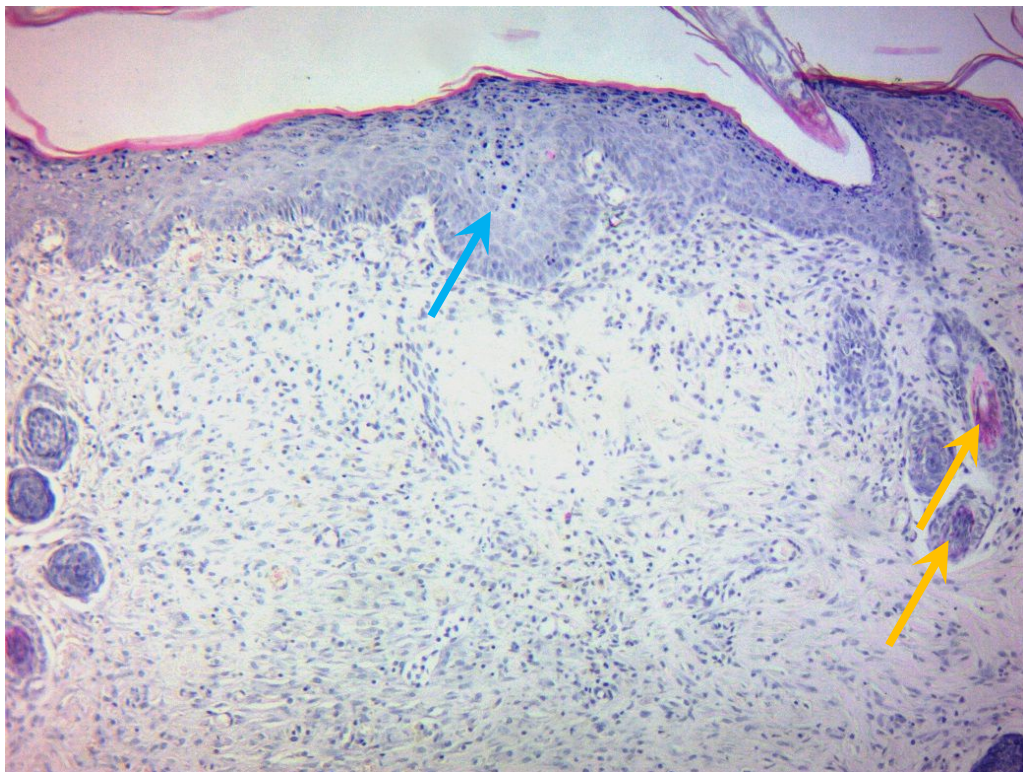


Рис. 3.53 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на 21-шу добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . → – епітелій, → – капіляри

На 21-шу добу в контрольній групі за рахунок наповзання епітелію краї рани поступово зближалися (рис. 3.54). Проте, наростання епітелію було менш вираженим, ніж у підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ. Рани

характеризувалися різним ступенем епітелізації та формуванням сполучнотканинного матриксу, який містив хаотично розташовані колагенові волокна, фібробласти, лімфоцити, опасисті клітини та новоутворені капіляри. Новоутворений епідерміс мав потовщені краї, що підкреслювало незавершеність стратифікації. Грануляційна тканина покривала дно рани, а на рівні дерми ще зберігалися вогнища лейкоцитарної інфільтрації.

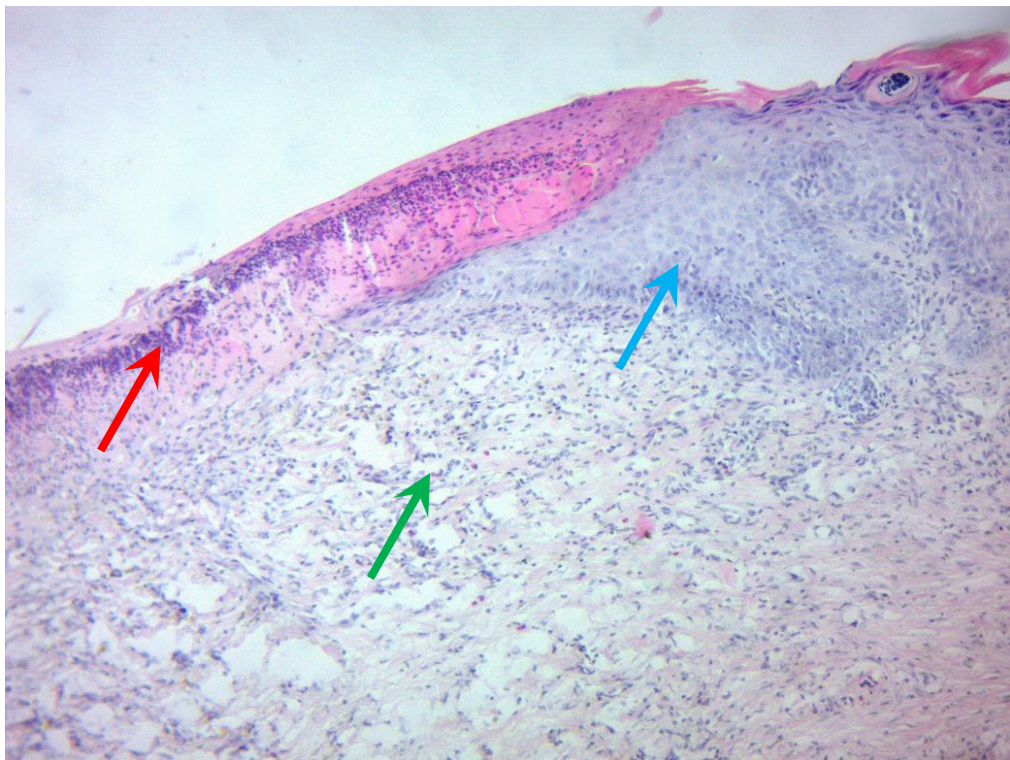


Рис. 3.54 – Гістологічна будова ділянки гнійної рани щура, яка тривало не загоюється, на 21-шу добу експерименту в контрольній групі. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення  $\times 200$ . **→** – запальна інфільтрація; **→** – грануляційна тканина; **→** – епітелій

Отже, аналіз гістологічного дослідження гнійних ран, що тривало не загоюються, та морфометричних показників вказує за більш швидкі процеси загоєння ран у підгрупах НЧС/УЗ, НЧС та УЗ порівняно з контрольною групою із застосуванням Хлоргексидину, водночас процеси загоєння в

підгрупі НЧС/УЗ були більш інтенсивними порівняно з монотерапією НЧС та УЗ.

У підгрупах НЧС/УЗ, НЧС та УЗ відбувалося більш швидке очищення ран від гнійно-некротичних тканин, зменшення лейкоцитарної та лімфогістіоцитарної інфільтрації, стромального набряку, повнокрів'я судин, більш швидке дозрівання сполучної тканини та утворення нового епітеліального шару.

### **3.6 Цитологічне дослідження гнійних ран у експериментальних та контрольних групах**

#### **3.6.1 Цитологічне дослідження ранових поверхонь при гострому гнійному рановому процесі**

На 1-шу добу спостереження клітинний склад мазків-відбитків у всіх групах статистично не відрізнявся ( $p > 0,05$ ), (табл. 3.1, рис. 3.55). У зразках переважали детрит, еритроцити (частково в стані гемолізу), поодинокі еозинофіли, лімфоцити та значна кількість нейтрофілів з грампозитивними та грамнегативними мікроорганізмами, що розташовувались позаклітинно. Незначна кількість нейтрофілів мала цілісну структуру, більша ж частина представлена різними ознаками дистрофічних змін як у ядрі (пікноз, лізис, рексис), так і в цитоплазмі (вакуолізація, фрагментація, внутрішньоклітинний набряк). Клітини фібробластичного ряду та епітеліальні клітини були відсутні. РДІ у всіх групах становив  $< 1$ .

У всіх групах спостерігалися некротичні та дегенеративно-запальні типи цитогам (табл. 3.2).

На 3-тю добу (табл. 3.3, рис. 3.56, 3.57, 3.58, 3.59) нейтрофільні лейкоцити становили більшість у клітинному складі всіх груп, однак, дещо збільшилася кількість незмінених нейтрофілів та лімфоцитів.

Таблиця 3.1 – Клітинний склад гострих гнійних ран на 1-шу добу спостереження,  $M \pm m$  ( $n = 6$ )

Елементи цитограми	Групи тварин			
	НЧС	УЗ	НЧС/УЗ	Хлоргексиди н
Кількість лейкоцитів у полі зору	115,37±4,67	120,64±7,5 4	113,79±5,9 4	110,56±10,76
Деструкція лейкоцитів, %	95,56±4,13	94,57±3,75	93,23±6,05	94,49±4,62
Нейтрофіли, %	96,11±3,24	95,15±4,37	95,46±3,09	95,32±4,75
Лімфоцити, %	1,56±0,07	2,08±0,14	1,87±0,13	1,95±0,17
Моноцити, %	0,54±0,12	0,63±0,16	0,59±0,15	0,48±0,12
Макрофаги, %	1,53±0,33	1,46±0,41	1,37±0,36	1,52±0,42
Полібласти, %	0,56±0,23	0,68±0,25	0,71±0,26	0,73±0,22
Фібробласти, %	-	-	-	-
Ендотеліоцити, %	-	-	-	-
Епітелій	-	-	-	-

Примітки: # – різниця вірогідна у порівнянні з контрольною групою на 1-шу добу ( $p < 0,05$ ); \* – різниця вірогідна у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ на 3-ю добу ( $p < 0,05$ )

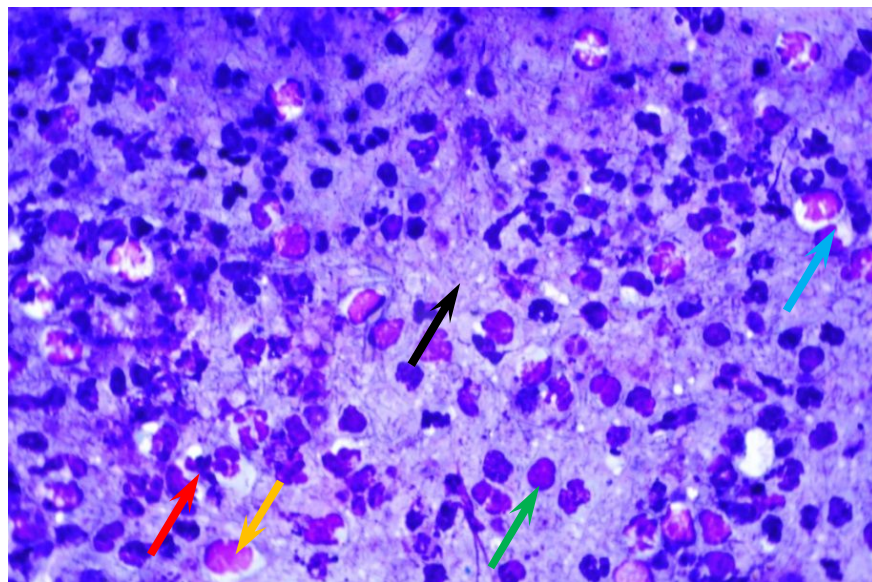


Рис. 3.55 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 1-шу добу експерименту. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\bluerightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит

Таблиця 3.2 – Типи цитограм гострих гнійних ран

Термін	Групи	Типи цитограм (%)					
		I	II	III	IV	V	VI
1-а доба	НЧС	21,15	78,85	-	-	-	-
	УЗ	20,46	79,54	-	-	-	-
	НЧС/УЗ	20,52	79,48	-	-	-	-
	Хлоргексидин	21,87	78,13	-	-	-	-
3-я доба	НЧС	-	52,15	47,85	-	-	-
	УЗ	-	50,42	49,58	-	-	-
	НЧС/УЗ	-	45,00	55,00	-	-	-
	Хлоргексидин	2,15	72,34	25,51	-	-	-
7-а доба	НЧС	-	25,12	69,29	5,65	-	-
	УЗ	-	21,52	66,35	12,13	-	-
	НЧС/УЗ	-	15,87	20,00	43,59	10,54	-
	Хлоргексидин	-	37,53	62,47	-	-	-
14-а доба	НЧС	-	-	-	-	8,91	91,09
	УЗ	повне загоєння					
	НЧС/УЗ	повне загоєння					
	Хлоргексидин	-	-	4,12	24,47	54,64	16,77

*Примітки:* I тип – некротичний, II – дегенеративно-запальний, III – запальний, IV – запально-регенеративний, V – регенеративно-запальний, VI – регенеративний

Починаючи з третьої доби у всіх групах спостерігали перетворення моноцитів у макрофаги з переважно незавершеним фагоцитозом. Відмічено статистично значуще ( $p < 0,05$ ) збільшення фагоцитуючих нейтрофільних лейкоцитів та фібробластів у підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ порівняно з першим днем. Аналогічних змін у контрольній групі не було виявлено (табл. 3.3). РДІ у всіх групах становив  $< 1$ , що свідчило за переважання запальних процесів.

Таблиця 3.3 – Показники клітинного складу гострих гнійних ран на 3-ю добу спостереження,  $M \pm m$  ( $n = 6$ )

Елементи цитограми	Групи тварин			
	НЧС	УЗ	НЧС/УЗ	Хлоргексидин
Кількість лейкоцитів у полі зору	85,41±0,63* <sup>×</sup>	80,21±0,74* <sup>#</sup>	74,72±1,29* <sup>#</sup>	88,50±0,21
Деструкція лейкоцитів, %	75,42±0,54* <sup>#<sup>×</sup></sup>	72,61±0,32* <sup>#<sup>×</sup></sup>	67,44±0,75* <sup>#</sup>	82,52±0,48*
Нейтрофіли, %	82,53±0,05* <sup>#<sup>×</sup></sup>	80,44±0,03* <sup>#<sup>×</sup></sup>	72,53±0,57* <sup>#</sup>	86,72±0,13*
Лімфоцити, %	3,77±0,07*	3,65±0,02 <sup>#</sup>	4,52±0,24* <sup>#</sup>	2,53±0,28
Моноцити, %	0,79±0,01 <sup>#<sup>×</sup></sup>	1,29±0,07 <sup>#</sup>	2,48±0,05* <sup>#</sup>	0,59±0,44
Макрофаги, %	3,86±0,02* <sup>#<sup>×</sup></sup>	4,18±0,41* <sup>#</sup>	5,46±0,33* <sup>#</sup>	3,07±0,06*
Полібласти, %	7,90±0,07*	8,27±0,63* <sup>#</sup>	10,11±0,41* <sup>#</sup>	6,77±0,2*
Фібробласти, %	0,82±0,06* <sup>#<sup>×</sup></sup>	1,69±0,42* <sup>#</sup>	2,81±0,22* <sup>#</sup>	0,32±0,13
Ендотеліоцити, %	0,33±0,02 <sup>#<sup>×</sup></sup>	0,41±0,28* <sup>#<sup>×</sup></sup>	1,84±0,45* <sup>#</sup>	-
Епітеліальні клітини	-	-	Поодинокі клітини	-

*Примітки:* \* – різниця вірогідна у порівнянні з 1-ю добою в межах однієї групи ( $p < 0,05$ ); # – різниця вірогідна у порівнянні з контрольною групою на 3-ю добу ( $p < 0,05$ ); <sup>×</sup> – різниця вірогідна у порівнянні з групою НЧС/УЗ на 3-ю добу ( $p < 0,05$ )

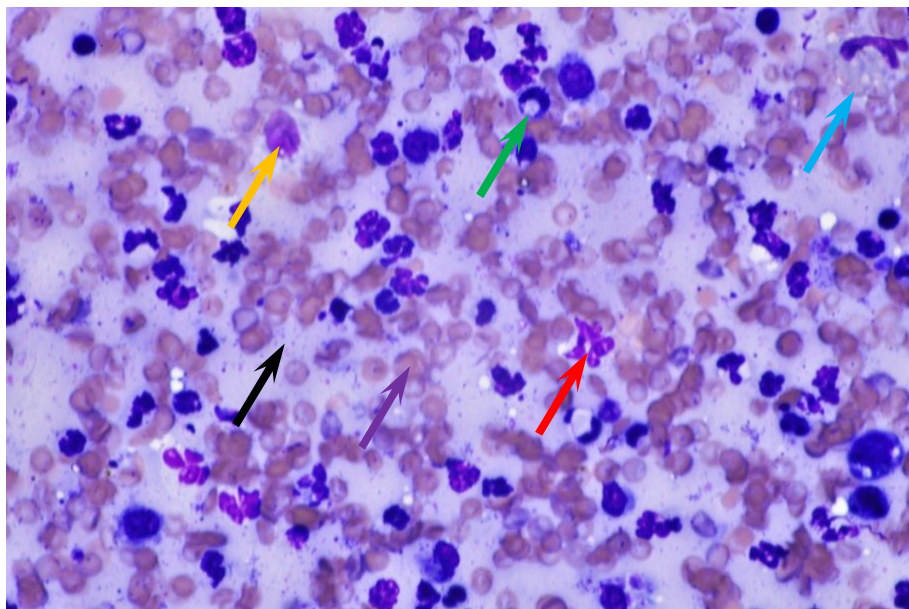


Рис. 3.56 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 3-ю добу експерименту в підгрупі НЧС. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\color{red}\rightarrow$  – лейкоцит,  $\color{green}\rightarrow$  – лімфоцит,  $\color{blue}\rightarrow$  – макрофаг,  $\color{yellow}\rightarrow$  – моноцит,  $\color{purple}\rightarrow$  – еритроцит

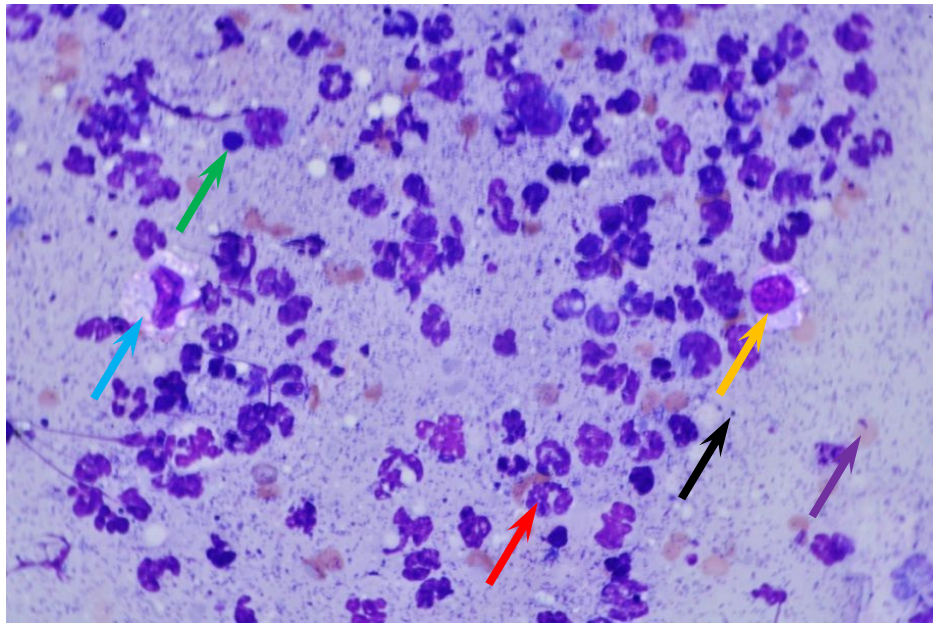


Рис. 3.57 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 3-ю добу експерименту в підгрупі УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\color{red}\rightarrow$  – лейкоцит,  $\color{green}\rightarrow$  – лімфоцит,  $\color{cyan}\rightarrow$  – макрофаг,  $\color{yellow}\rightarrow$  – моноцит,  $\color{purple}\rightarrow$  – еритроцит

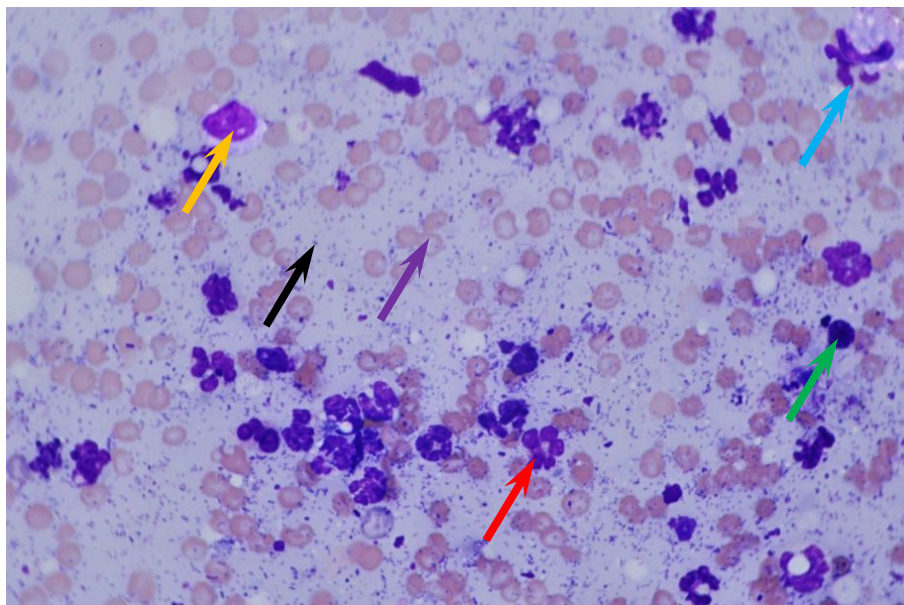


Рис. 3.58 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 3-ю добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\color{red}\rightarrow$  – лейкоцит,  $\color{green}\rightarrow$  – лімфоцит,  $\color{cyan}\rightarrow$  – макрофаг,  $\color{yellow}\rightarrow$  – моноцит,  $\color{purple}\rightarrow$  – еритроцит



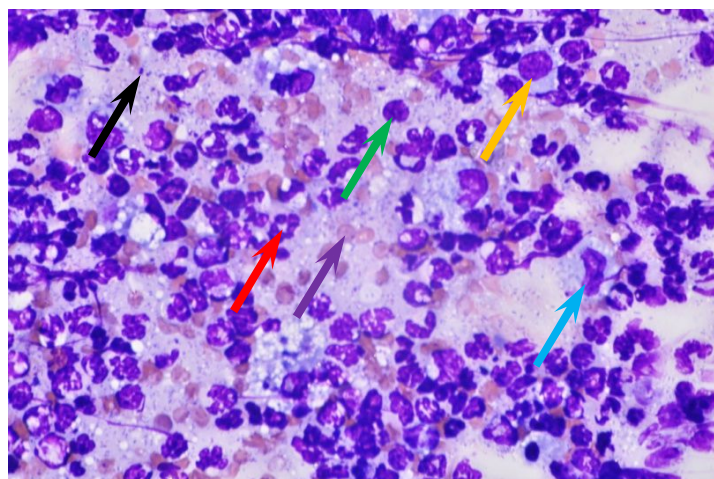


Рис. 3.59 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 3-ю добу експерименту в контрольній групі. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\color{red}\rightarrow$  – лейкоцит,  $\color{green}\rightarrow$  – лімфоцит,  $\color{blue}\rightarrow$  – макрофаг,  $\color{yellow}\rightarrow$  – моноцит,  $\color{purple}\rightarrow$  – еритроцит

На 3-ту добу у досліджених групах спостерігалася позитивна динаміка перебігу ранового процесу (табл. 3.3), що підтверджується достовірним збільшенням кількості моноцитів (у 1,3 рази в підгрупі НЧС; у 2,2 рази в підгрупі УЗ; у 4,2 рази в підгрупі НЧС/УЗ) та макрофагів (у 1,3 рази в підгрупі НЧС; у 1,4 рази в підгрупі УЗ; у 1,9 рази в підгрупі НЧС/УЗ) порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ), що свідчить за позитивну динаміку перебігу ранового процесу (табл. 3.3). Відсоток нейтрофілів у підгрупі НЧС/УЗ ( $72,53 \pm 0,57\%$ ) був достовірно ( $p < 0,05$ ) меншим, ніж у підгрупах НЧС ( $82,53 \pm 0,05\%$ ) та УЗ ( $80,44 \pm 0,03\%$ ), а відсоток ендотеліоцитів – достовірно більшим ( $p < 0,05$ ), що свідчить за більш швидше очищення ран та за більш інтенсивні процеси регенерації в підгрупі НЧС/УЗ. У підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ зменшилась ( $p < 0,05$ ) частка деструктивних форм лейкоцитів (табл. 3.3). На відміну від основної групи з дегенеративно-запальним та запальним типом (табл. 3.2), у контрольній групі ще зберігався некротичний тип цитограм (2,15 %). Кількість бактерій в основній групі істотно зменшувалася. У підгрупі НЧС/УЗ спостерігалися поодинокі епітеліальні клітини.

На 7-му добу (табл. 3.4, рис. 3.60, 3.61, 3.62, 3.63) у контрольній групі спостереження переважали поодинокі міелоцити, макрофаги у стані незавершеного фагоцитозу, полібласти та незмінні еритроцити; велика кількість поліморфноядерних лейкоцитів вказувала на активність захисної реакції організму в боротьбі з інфекцією. В основній групі клітинний детрит не відмічався, подекуди візуалізувалися ізольовані мікроорганізми. В усіх групах спостерігались клітинні елементи, притаманні для активного формування грануляційної тканини – фібробласти та гістіоцити. В основній групі та в контрольній порівняно з 3-ю добою відмічалось достовірне ( $p < 0,05$ ) зниження відсотку лейкоцитів, які перебували у стані деструкції, (в 3,6 – 4,5 рази) та нейтрофільних лейкоцитів (в 3,4 – 4,7 рази) (табл. 3.4). Кількість фібробластів достовірно ( $p < 0,05$ ) збільшилась у всіх групах, що вказує на активні процеси синтезу сполучної тканини (табл. 3.4). РДІ у всіх групах становив  $> 1$ , що вказувало на переважання регенеративних процесів.

Таблиця 3.4 – Показники клітинного складу гострих гнійних ран на 7-у добу спостереження,  $M \pm m$  ( $n = 6$ )

Елементи цитограми	Групи тварин			
	НЧС	УЗ	НЧС/УЗ	Хлоргексидин
Кількість лейкоцитів у полі зору	27,93±0,54*# <sup>x</sup>	23,21±0,58*#	21,22±1,51*#	45,47±0,08*
Деструкція лейкоцитів, %	22,52±0,17*# <sup>x</sup>	20,02±0,41*# <sup>x</sup>	15,04±0,21*#	42,0±0,32*
Нейтрофіли, %	43,43±0,13*# <sup>x</sup>	23,76±0,15*# <sup>x</sup>	15,49±0,05*#	59,34±0,12*
Лімфоцити, %	3,88±0,06*#	3,55±0,03 <sup>#</sup>	4,34±0,18*#	2,86±0,21
Моноцити, %	1,22±0,22*	1,44±0,22	2,41±0,11*#	0,75±0,09
Макрофаги, %	15,77±0,13*# <sup>x</sup>	24,33±0,14*#	26,72±0,21*#	11,11±0,08*
Полібласти, %	17,78±0,06*	21,70±0,17*#	22,16±0,44*#	14,73±0,16*
Фібробласти, %	15,59±0,15*# <sup>x</sup>	22,81±0,08*#	24,67±0,22*#	10,55±0,24*
Ендотеліоцити, %	2,33±0,14*# <sup>x</sup>	2,38±0,25*# <sup>x</sup>	4,18±0,32*#	0,59±0,16
Епітеліальні клітини	групи клітин	групи клітин	пласти клітин	поодинокі клітини

*Примітки:* \* – різниця вірогідна у порівнянні з 3-ю добою в межах однієї групи ( $p < 0,05$ ); # – різниця вірогідна у порівнянні з контрольною групою на 7-у добу ( $p < 0,05$ ); <sup>x</sup> – різниця вірогідна у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ на 7-у добу ( $p < 0,05$ )

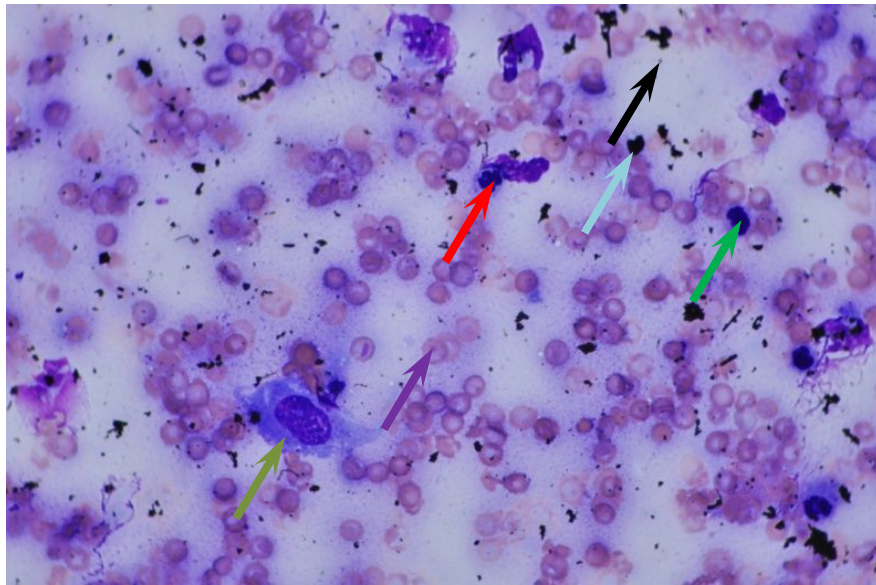


Рис. 3.60 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 7-у добу експерименту в підгрупі НЧС. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\cyanrightarrow$  – конгломерати НЧС,  $\oliverightarrow$  – фібробласт

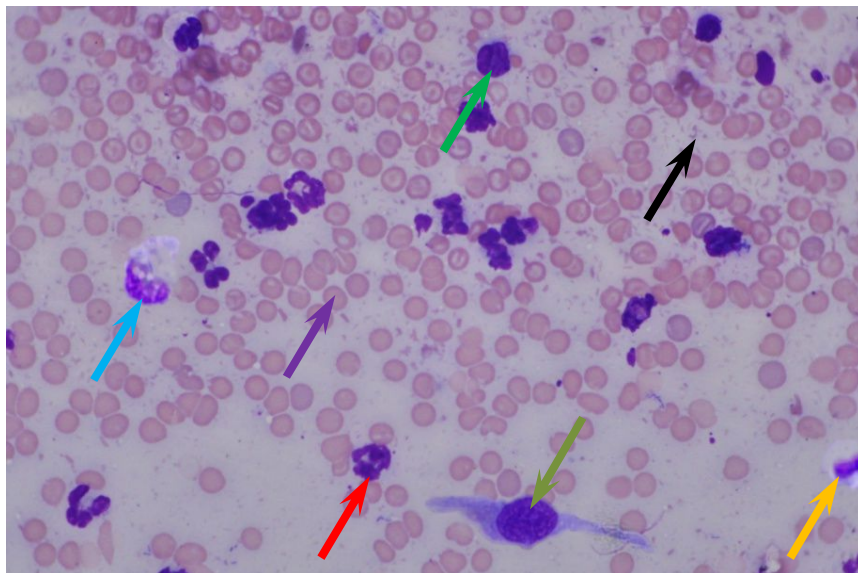


Рис. 3.61 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 7-у добу експерименту в підгрупі УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\oliverightarrow$  – фібробласт

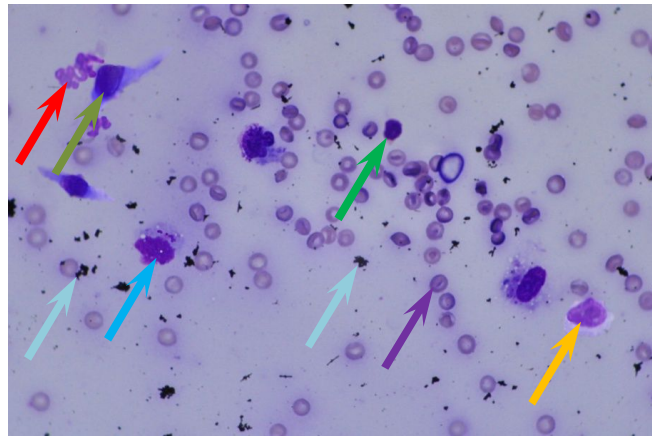


Рис. 3.62 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 7-у добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\oliverightarrow$  – фібробласт,  $\lightbluerightarrow$  – конгломерати наночастинок срібла

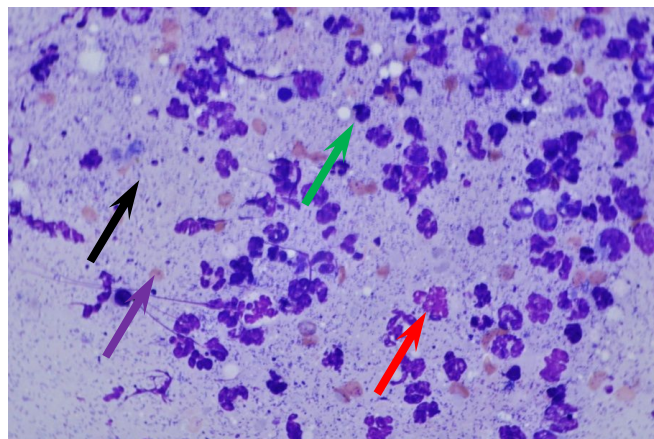


Рис. 3.63 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 7-у добу експерименту в контрольній групі. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит

Макрофаги були представлені великими клітинами у розмірах від 16 до 24 мкм з ядрами фіолетового кольору, у яких компактно розташований хроматин; цитоплазма – слабобазофільна, з вираженою вакуолізацією. Фібробласти представлені клітинами розміром 20-28 мкм, овальної, полігональної форми. Ядра повторювали форму клітин з одним або двома добре

вираженими ядерцями та пилоподібним хроматином. Лімфоцити – клітини круглястої форми, розмірами 7-8 мкм, з ядрами фіолетового кольору.

При порівнянні груп між собою (табл. 3.4), встановлено, що кількість нейтрофілів в групі контролю перевищувала показники підгрупи НЧС у 1,4 рази, УЗ – у 2,5 рази, НЧС/УЗ – у 3,8 рази ( $p < 0,05$ ). Кількість фібробластів у основній групі перевищувала (у 1,5 – 2,3 рази) аналогічний показник у групі контролю ( $p < 0,05$ ), що свідчить за перехід гострої запальної реакції у фазу регенерації з формуванням грануляційної тканини (табл. 3.4). На цитограмах із застосуванням НЧС добре видні конгломерати НЧС чорного кольору (рис. 3.60, 3.62). Кількість лімфоцитів у контрольній групі була меншою у 1,2 – 1,5 рази ( $p < 0,05$ ) порівняно з експериментальною групою, що свідчить за пригнічення специфічного імунітету в ході репаративних процесів у ранах.

У основній групі спостерігалися регенеративні типи цитограм (табл. 3.2). У підгрупі НЧС/УЗ виявлялися скупчення епітеліальних клітин з базофільною цитоплазмою, що вказує на швидший перехід процесу загоєння у фазу епітелізації та реорганізації рубця. Значна кількість дегенеративно-змінених форм нейтрофілів у мазках-відбитках контрольної групи свідчила за уповільнений перебіг загоєння (дегенеративно-запальний тип цитограми), у порівнянні з експериментальними підгрупами (табл. 3.2).

На 14-ту добу в підгрупах УЗ та НЧС/УЗ спостерігалось повне загоєння ран. У підгрупі НЧС епітелізація ран майже завершилась (рис. 3.64). Враховуючи те, що загоєння ран під кінець третьої фази ранового процесу відбувалося під струпом, деякі показники цитограм можуть бути недостовірними (табл. 3.5). У контрольній групі на 14-ту добу (табл. 3.5, рис. 3.65) спостерігали зменшення загального числа лейкоцитів порівняно з 7-ою добою, причому значна кількість нейтрофілів ще залишалася у стадії дегенерації та деструкції, відмічались ознаки прогресуючої фагоцитарної активності. Достовірне ( $p < 0,05$ ) збільшення відсотку фібробластів та ендотеліоцитів вказувало на наявність регенеративних процесів. Мікроорганізми візуалізувалися в стані незавершеного фагоцитозу та, у деяких

випадках, виявлялися ізольовано серед уламків нейтрофілів. Переважали регенеративно-запальні та запальні типи цитограм (табл. 3.2). РДІ у всіх групах становив  $> 1$ . Подальше цитологічне спостереження (14 – 21 доба) вказувало на позитивну динаміку репаративних процесів.

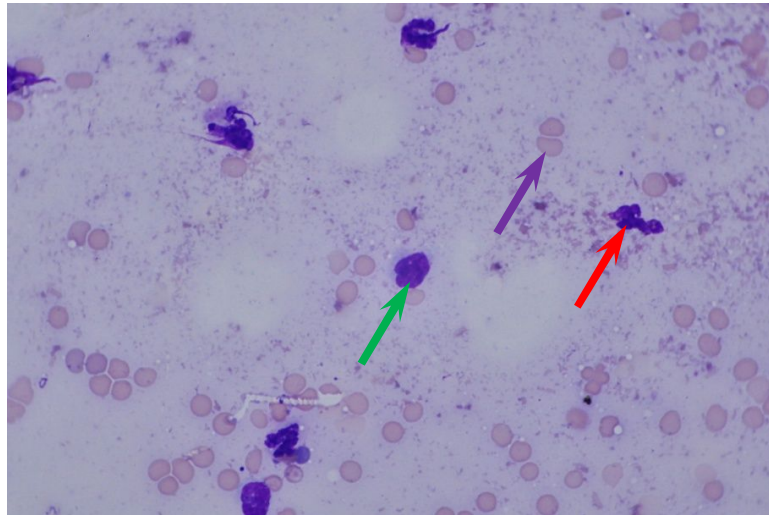


Рис. 3.64 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 14-ту добу експерименту в підгрупі НЧС. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\rightarrow$  – лейкоцит,  $\rightarrow$  – лімфоцит  $\rightarrow$  – еритроцит

Таблиця 3.5 – Показники клітинного складу гострих гнійних ран на 14-у добу спостереження,  $M \pm m$  ( $n = 6$ )

Елементи цитограми	Групи тварин			
	НЧС	УЗ	НЧС/УЗ	Хлоргексидин
Кількість лейкоцитів у полі зору	$7,2 \pm 0,44^{* \#}$	повне загоєння	повне загоєння	$30,2 \pm 0,35^*$
Деструкція лейкоцитів, %	$3,4 \pm 0,15^{* \#}$			$18,4 \pm 0,28^*$
Нейтрофіли, %	$14,1 \pm 0,14^{* \#}$			$29,6 \pm 0,22^*$
Лімфоцити, %	$2,2 \pm 0,03^*$			$3,1 \pm 0,18$
Моноцити, %	$2,1 \pm 0,23^{* \#}$			$1,3 \pm 0,13^*$
Макрофаги, %	$15,6 \pm 0,25^{* \#}$			$20,4 \pm 0,12^*$
Полібласти, %	$14,5 \pm 0,12^{* \#}$			$19,7 \pm 0,11^*$
Фібробласти, %	$38,8 \pm 0,28^{* \#}$			$19,1 \pm 0,21^*$
Ендотеліоцити, %	$12,7 \pm 0,13^{* \#}$			$6,8 \pm 0,18^*$
Епітеліальні клітини	пласти клітин			

Примітки: \* – різниця вірогідна у порівнянні з 10-ю добою в межах однієї групи ( $p < 0,05$ ); # – різниця вірогідна у порівнянні з контрольною групою на 14-у добу ( $p < 0,05$ )

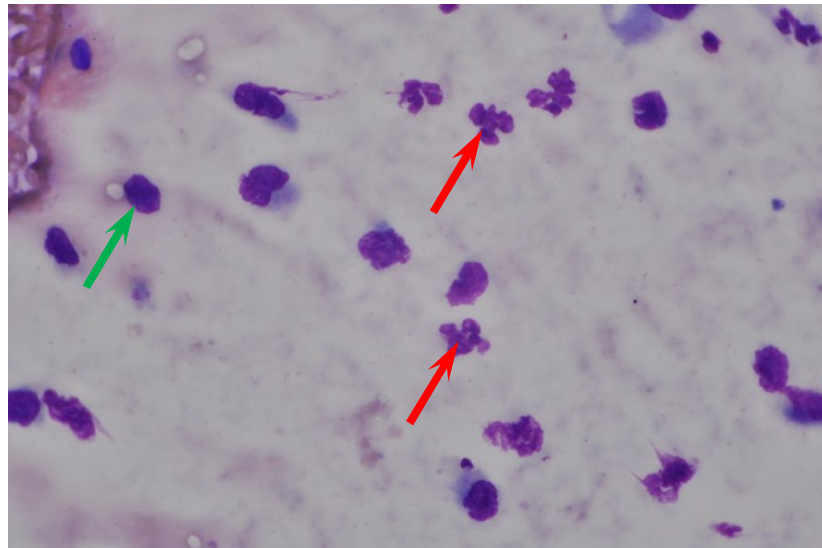


Рис. 3.65 – Цитологічна картина поверхні гострих гнійних ран на 14-ту добу експерименту в контрольній групі. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\rightarrow$  – лейкоцит,  $\rightarrow$  – лімфоцит

Дані цитологічного дослідження гострих гнійних ран підтверджують швидші процеси загоєння у підгрупі НЧС/УЗ порівняно з контрольною групою: спостерігалось більш швидке зменшення кількості лейкоцитів у полі зору та відсотку їх деструкції, більш швидка активація клітин моноцитарно-макрофагального ряду, поява фібробластів та епітеліальних клітин і, як наслідок – швидка зміна типів цитогам від некротичних до регенеративних. Цитологічними дослідженнями підтверджено, що поєднана терапія НЧС/УЗ має достовірні переваги перед монотерапією НЧС та УЗ.

### **3.6.2 Цитологічне дослідження поверхонь гнійних ран, що тривало не загоюються**

На 1-шу добу спостереження клітинний склад мазків-відбитків у всіх групах достовірно не відрізнявся,  $p > 0,05$ , (табл. 3.6, рис. 3.66) та був типовим для некротичного типу цитогам (табл. 3.7).

У зразках спостерігались гнійний детрит, еритроцити в стані гемолізу, поодинокі еозинофіли, лімфоцити та велика кількість нейтрофілів з грампозитивними та грамнегативними мікроорганізмами, що розташовувались позаклітинно. Переважна більшість нейтрофілів мала різні ознаки дегенеративних змін, деякі перебували в стані розпаду. Лише незначна кількість нейтрофілів була з нормально сегментованим ядром та з цілісною цитоплазмою без дистрофічних проявів. Траплялися поодинокі клітини моноцитарно-макрофагального ряду, а клітини фібробластичного ряду та епітеліальні клітини були відсутні (табл. 3.6). РДІ у всіх групах був < 1.

Таблиця 3.6 – Показники клітинного складу гнійних ран, що тривало не загоюються, на 1-шу добу спостереження,  $M \pm m$  (n = 6)

Елементи цитограми	Групи тварин			
	НЧС	УЗ	НЧС/УЗ	Хлоргексиди н
Кількість лейкоцитів у полі зору	127,56±10,5 7	124,37±8,6 7	117,16±9,7 6	116,87±11,57
Деструкція лейкоцитів, %	96,77±2,64	97,31±2,55	98,47±1,19	96,81±3,12
Нейтрофіли, %	95,32±4,82	95,0±5,62	94,44±4,09	95,05±5,59
Лімфоцити, %	1,32±0,25	1,53±0,45	1,47±0,42	1,29±0,36
Моноцити, %	1,43±0,27	1,56±0,36	1,73±0,44	1,62±0,55
Макрофаги, %	1,45±0,41	1,38±0,52	1,72±0,62	1,42±0,48
Полібласти, %	0,48±0,14	0,53±0,22	0,64±0,31	0,62±0,32
Фібробласти, %	-	-	-	-
Ендотеліоцити, %	-	-	-	-
Епітелій	-	-	-	-

Примітки: # – різниця вірогідна у порівнянні з контрольною групою на 1-шу добу ( $p < 0,05$ ); \* – різниця вірогідна у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ на 3-ю добу ( $p < 0,05$ )



Таблиця 3.7 – Типи цитограм гнійних ран, що тривало не загоюються

Термін	Групи	Типи цитограм (%)					
		I	II	III	IV	V	VI
1-а доба	НЧС	57,37	42,63	-	-	-	-
	УЗ	61,54	38,46	-	-	-	-
	НЧС/УЗ	62,91	37,09	-	-	-	-
	Хлоргексидин	59,42	40,58	-	-	-	-
3-я доба	НЧС	35,57	64,43	-	-	-	-
	УЗ	37,38	62,62	-	-	-	-
	НЧС/УЗ	22,13	72,30	5,57	-	-	-
	Хлоргексидин	48,37	51,63	-	-	-	-
7-а доба	НЧС	15,39	47,36	37,25	-	-	-
	УЗ	8,32	45,52	46,16	-	-	-
	НЧС/УЗ	-	31,44	48,82	19,74	-	-
	Хлоргексидин	22,71	77,29	-	-	-	-
14-а доба	НЧС	-	18,58	22,21	34,79	24,42	-
	УЗ	-	20,25	27,49	31,28	20,98	-
	НЧС/УЗ	-	-	-	2,04	76,79	21,17
	Хлоргексидин	4,12	24,47	54,64	16,77	-	-
21-а доба	НЧС	-	-	-	4,14	32,28	63,58
	УЗ	-	-	-	16,26	39,17	44,57
	НЧС/УЗ	Повне загоєння					
	Хлоргексидин	-	-	3,25	63,28	33,47	-

Примітки: I тип – некротичний, II – дегенеративно-запальний, III – запальний, IV – запально-регенеративний, V – регенеративно-запальний, VI – регенеративний

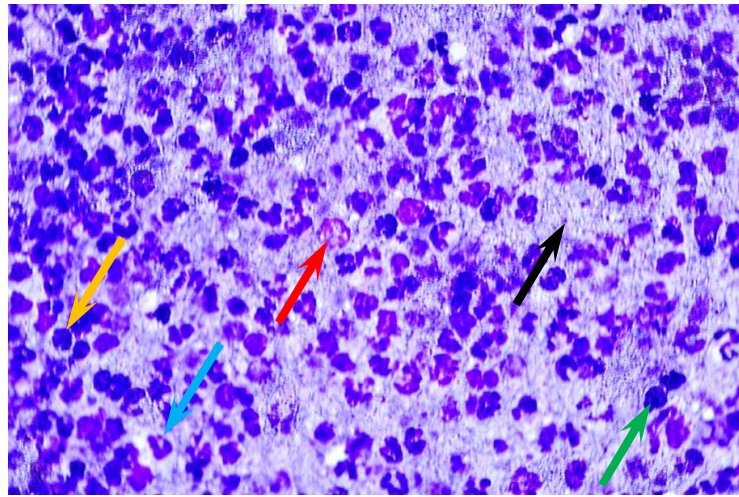


Рис. 3.66 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 1-шу добу експерименту. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит

На 3-ю добу (табл. 3.8, рис. 3.67, 3.68, 3.69, 3.70) характерною особливістю для всіх досліджуваних груп була наявність значної кількості фібрину, тканинного та клітинного детриту. Відмічалось статистично достовірне ( $p < 0,05$ ) зменшення кількості лейкоцитів у всіх групах порівняно з 1-ю добою. Відсоток деструктивно-змінених лейкоцитів зменшився лише в підгрупі НЧС/УЗ ( $p < 0,05$ ). Дистрофічні зміни відмічалися як у ядрі, так і в цитоплазмі. Спостерігалася незначна кількість мононуклеарних фагоцитів. В основному переважали незрілі моноцитарні форми клітин без здатності до фагоцитозу. Лише невелику кількість клітин ( $1,26 \pm 0,46 \% - 2,37 \pm 0,51 \%$ ) можна було віднести до зрілих макрофагів, що свідчить за неадекватність макрофагальної ланки імунної системи у рановому процесі на даному етапі. Решта показників у всіх групах залишалася без змін. Фібробласти та епітеліальні клітини, на відміну від гострих гнійних ран, на 3-ю добу ще були відсутні, а кількість мікрофлори залишалася майже незмінною. У підгрупі НЧС/УЗ у  $5,57 \%$  спостерігався запальний тип цитограм, а у всіх інших підгрупах – переважно дегенеративно-запальний (табл. 3.7). РДІ у всіх групах становив  $< 1$ .

Таблиця 3.8 – Показники клітинного складу гнійних ран, що тривало не загоюються, на 3-ю добу спостереження,  $M \pm m$  ( $n = 6$ )

Елементи цитограми	Групи тварин			
	НЧС	УЗ	НЧС/УЗ	Хлоргексидин
Кількість лейкоцитів у полі зору	105,54±8,47*	101,38±10,73*	110,05±8,64*	108,57±7,46*
Деструкція лейкоцитів, %	95,72±4,14	93,85±6,28	92,91±3,26*	94,58±5,18
Нейтрофіли, %	92,92±6,38	93,56±5,43	93,09±6,70	94,4±4,97
Лімфоцити, %	1,78±0,49	1,61±0,52	1,45±0,34	1,55±0,71
Моноцити, %	1,46±0,38	1,22±0,43	1,53±0,61	1,08±0,51
Макрофаги, %	1,97±0,57	2,18±0,32	2,37±0,51	1,26±0,46
Полібласти, %	1,87±0,35	1,43±0,52	1,56±0,62	1,71±0,36
Фібробласти, %	-	-	-	-
Ендотеліоцити, %	-	-	-	-
Епітелій	-	-	-	-

Примітки: \* – різниця вірогідна у порівнянні з 1-ю добою в межах однієї групи ( $p < 0,05$ ); # – різниця вірогідна у порівнянні з контрольною групою на 3-ю добу ( $p < 0,05$ ); × – різниця вірогідна у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ на 3-ю добу ( $p < 0,05$ )

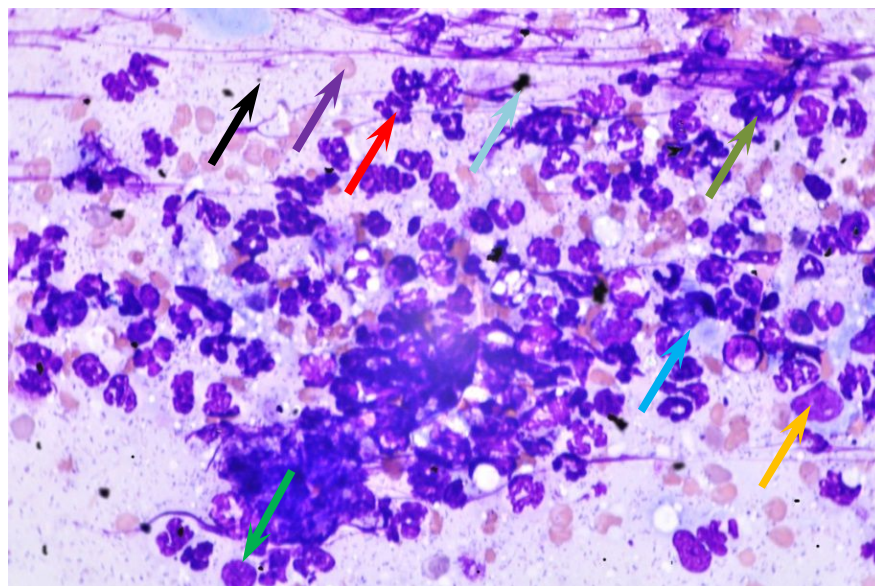


Рис. 3.67 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 3-ю добу експерименту в підгрупі НЧС. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\lightbluerightarrow$  – конгломерати НЧС,  $\darkgreenrightarrow$  – нейтрофіл в стадії деструкції

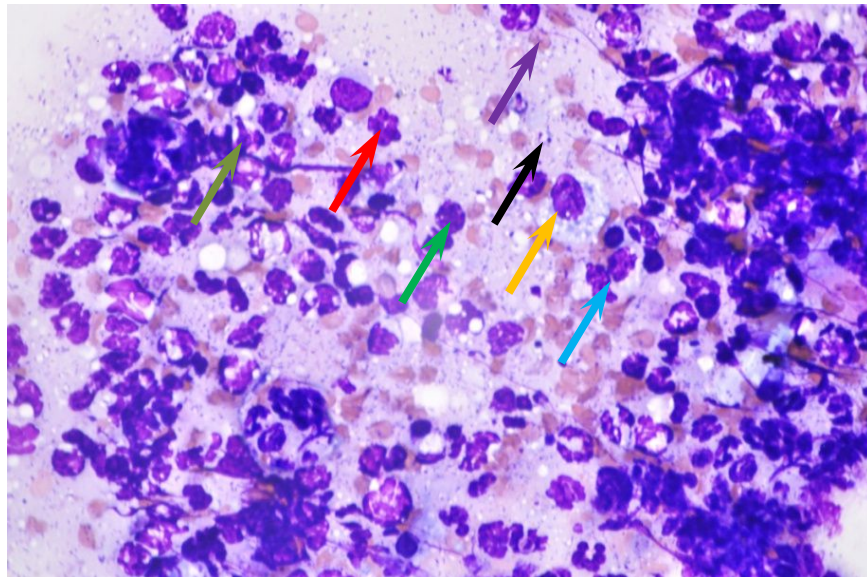


Рис. 3.68 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 3-ю добу експерименту в підгрупі УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\oliverightarrow$  – нейтрофіл в стадії деструкції

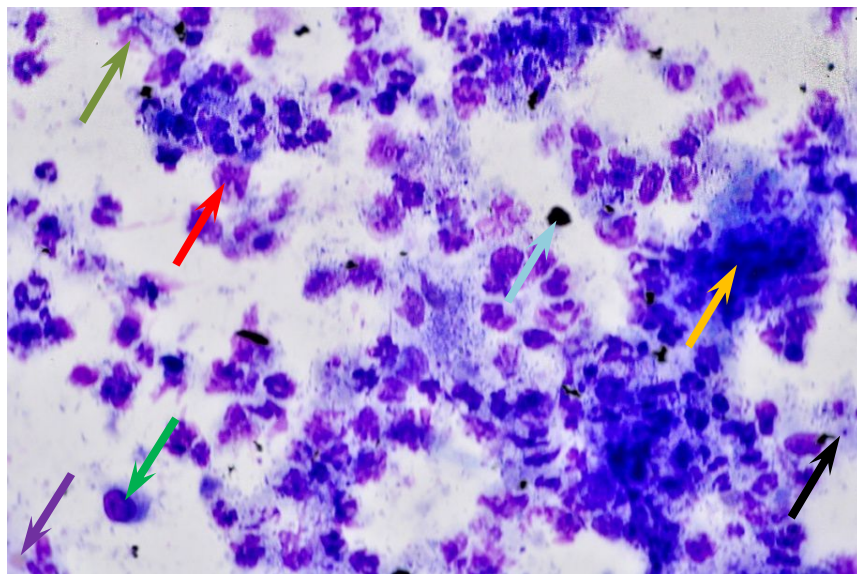


Рис. 3.69 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 3-ю добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\yellowrightarrow$  – клітинний детрит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\cyanrightarrow$  – конгломерати НЧС,  $\oliverightarrow$  – нейтрофіл в стадії деструкції

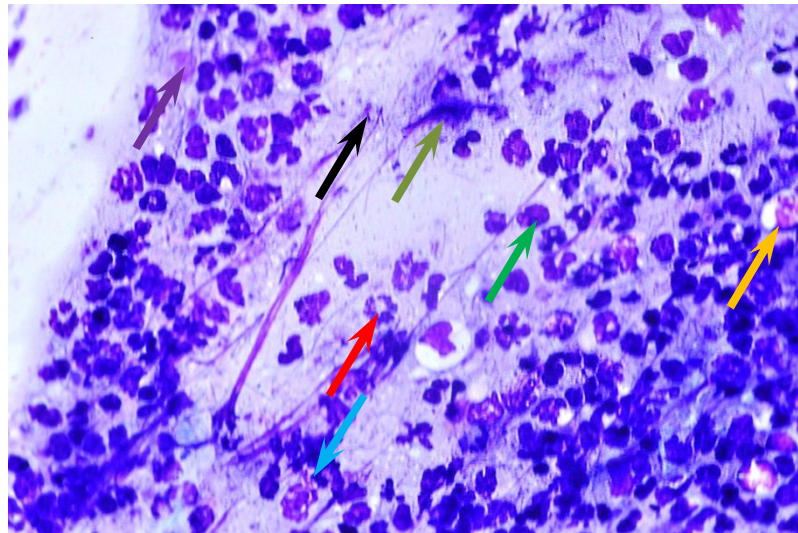


Рис. 3.70 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 3-ю добу експерименту в контрольній групі. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\lightgreenrightarrow$  – нейтрофіл в стадії деструкції

На 7-у добу (табл. 3.9, рис. 3.71, 3.72, 3.73, 3.74) клітинний склад у всіх групах, був представлений переважно нейтрофільними лейкоцитами, однак їх кількість була достовірно ( $p < 0,05$ ) меншою в підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ порівняно з контрольною групою. Частка деструктивних форм лейкоцитів у експериментальній групі також зменшувалась ( $p < 0,05$ ), порівняно з контрольною групою ( $83,72 \pm 3,52 \%$ ), а відсоток деструкції лейкоцитів у підгрупах НЧС ( $73,68 \pm 2,11 \%$ ) та УЗ ( $71,52 \pm 3,28 \%$ ) був достовірно вищим за підгрупу НЧС/УЗ ( $62,39 \pm 2,85 \%$ ),  $p < 0,05$  (табл. 3.9). Спостерігалися кокові та паличкоподібні форми мікроорганізмів у всіх полях зору, які були розташовані хаотично, іноді – у вигляді скупчень. Частина мікроорганізмів у підгрупі НЧС/УЗ знаходилась внутрішньоклітинно у стані незавершеного фагоцитозу. Частка макрофагів становила  $7,84 \pm 0,11 \%$ , що достовірно більше порівняно з контролем ( $p < 0,05$ , табл. 3.9). У інших підгрупах спостерігалася слабка фагоцитарна активність з різним ступенем вираженості фагоцитозу, що підтверджувалося некротичним та

дегенеративно-запальним типом цитограм (табл. 3.7). На відміну від решти підгруп, у підгрупі НЧС/УЗ у 19,74 % можна було побачити запально-регенеративний тип цитограм з поодинокими епітеліальними клітинами. Відмічалася поява юних форм фібробластів у підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ, тоді як у контрольній групі ці елементи ще були відсутні. РДІ у всіх групах становив  $< 1$ .

Таблиця 3.9 – Показники клітинного складу гнійних ран, що тривало не загоюються, на 7-у добу спостереження,  $M \pm m$  ( $n = 6$ )

Елементи цитограми	Групи тварин			
	НЧС	УЗ	НЧС/УЗ	Хлоргексидин
Кількість лейкоцитів у полі зору	84,48±3,73 <sup>*#×</sup>	82,83±4,29 <sup>*#</sup>	72,27±5,47 <sup>*#×</sup>	97,29±4,34 <sup>*</sup>
Деструкція лейкоцитів, %	73,68±2,11 <sup>*#×</sup>	71,52±3,28 <sup>*#×</sup>	62,39±2,85 <sup>*#</sup>	83,72±3,52 <sup>*</sup>
Нейтрофіли, %	84,87±3,43 <sup>*#×</sup>	83,0±0,37 <sup>*#×</sup>	72,24±2,28 <sup>*#</sup>	93,78±3,39
Лімфоцити, %	2,56±0,18	2,63±0,19	3,82±0,33 <sup>*#</sup>	1,58±0,25
Моноцити, %	2,28±0,17	2,45±0,26	2,82±0,34 <sup>*#</sup>	1,27±0,28
Макрофаги, %	4,28±0,45 <sup>*#×</sup>	5,64±0,42 <sup>*#</sup>	7,84±0,11 <sup>*#</sup>	1,53±0,08
Полібласти, %	4,19±0,26 <sup>*#×</sup>	4,54±0,29 <sup>*#</sup>	7,72±0,35 <sup>*#</sup>	1,84±0,23
Фібробласти, %	1,82±0,21 <sup>×</sup>	1,74±0,18 <sup>×</sup>	5,03±0,24	-
Ендотеліоцити, %	-	-	0,53±0,21	-
Епітелій	-	-	поодинокі клітини	-

Примітки: \* – різниця вірогідна у порівнянні з 3-ю добою в межах однієї групи ( $p < 0,05$ ); # – різниця вірогідна у порівнянні з контрольною групою на 7-у добу ( $p < 0,05$ ); <sup>×</sup> – різниця вірогідна у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ на 7-у добу ( $p < 0,05$ )

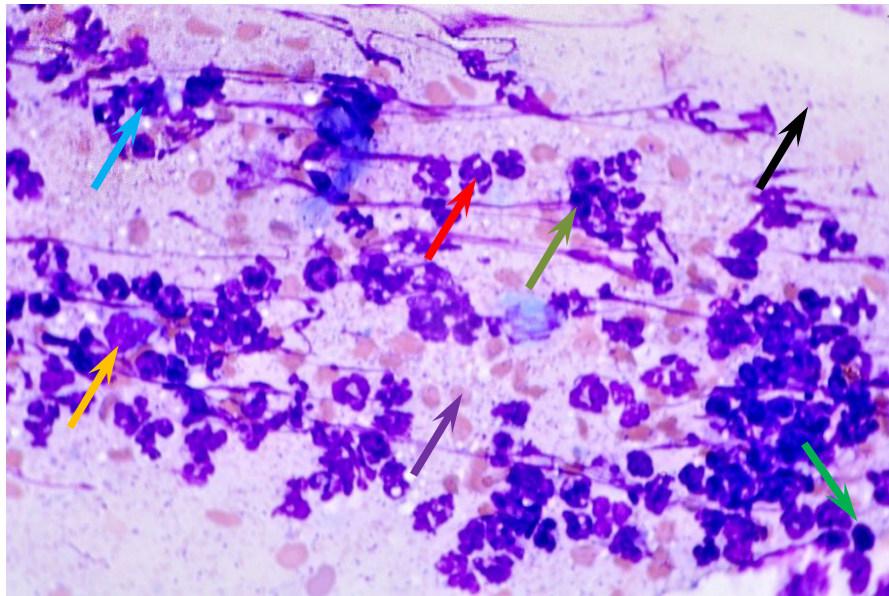


Рис. 3.71 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 7-у добу експерименту в підгрупі НЧС. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\oliverightarrow$  – нейтрофіл у стадії деструкції

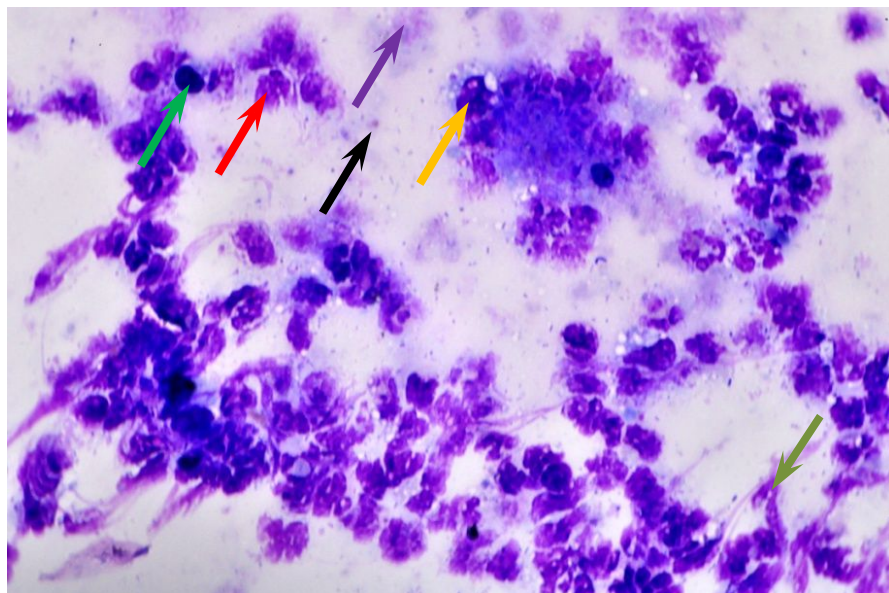


Рис. 3.72 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 7-у добу експерименту в підгрупі УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\oliverightarrow$  – нейтрофіл в стадії деструкції

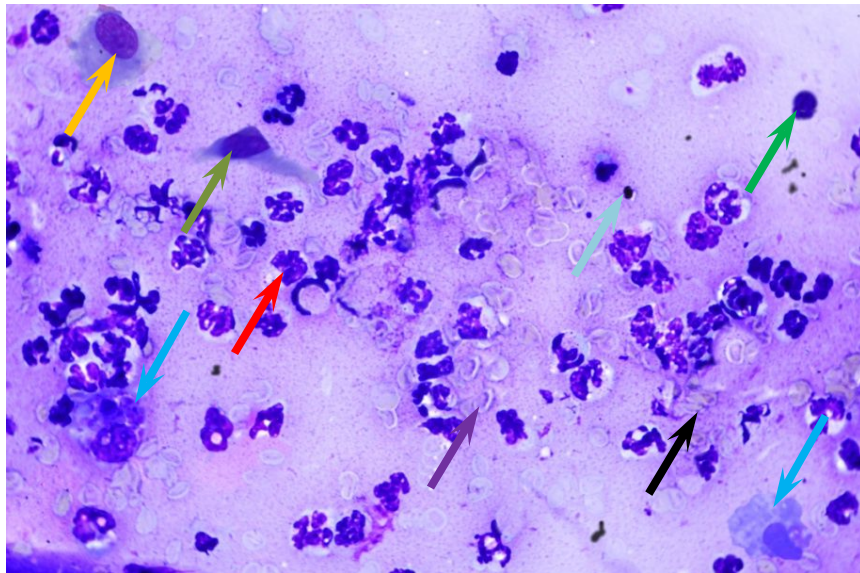


Рис. 3.73 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 7-у добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\lightbluerightarrow$  – конгломерати наночастинок срібла,  $\oliverightarrow$  – фібробласт

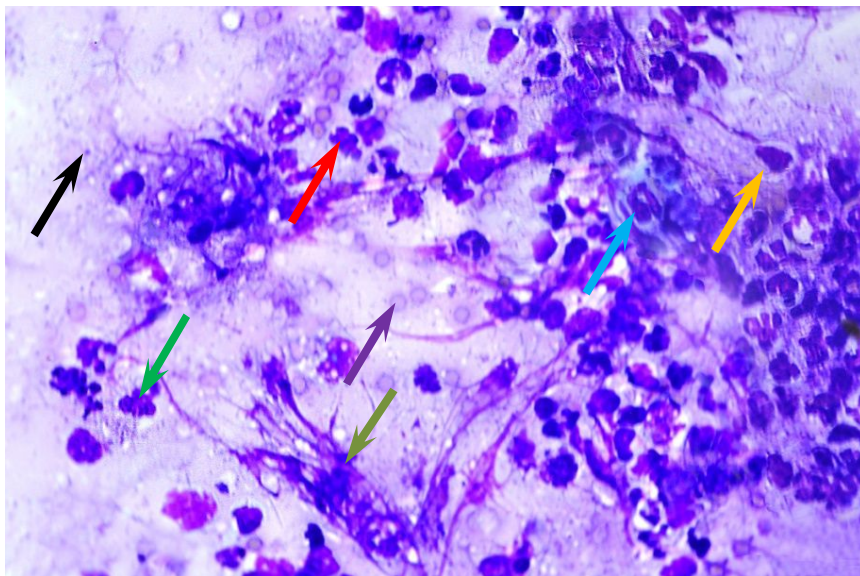


Рис. 3.74 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 7-у добу експерименту в контрольній групі. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\oliverightarrow$  – нейтрофіл в стадії деструкції



На 14-у добу (табл. 3.10, рис. 3.75, 3.76, 3.77, 3.78) цитологічні показники яскраво відображали різні стадії ранового процесу в досліджених групах.

Якщо в підгрупах НЧС, УЗ та контрольній групі, як і раніше, переважали нейтрофіли, то в підгрупі НЧС/УЗ – клітини макрофагального ( $25,24 \pm 2,69$  %) та фібробластичного ( $24,94 \pm 2,07$  %) ряду з переважанням проліферативних процесів ( $p < 0,05$ ). У підгрупі НЧС/УЗ кількість деструктивних форм лейкоцитів зменшилася у 3,9 рази порівняно з 7-им днем спостереження, у підгрупах НЧС та УЗ – у 2,2 та у 2,0 рази відповідно, ( $p < 0,05$ , табл. 3.10). У експериментальній групі істотно збільшилася кількість зрілих активних макрофагів ( $p < 0,05$ , табл. 3.10) з переважанням завершеного фагоцитозу, що свідчить за поживлення макрофагальних реакцій. У підгрупах НЧС та УЗ у деяких полях зору серед клітин спостерігалися вільно розташовані мікроорганізми, у підгрупі НЧС/УЗ – відсутні.

У контрольній групі можна було побачити ще невелику кількість фібрину та детриту з ледь помітним наростанням фібробластів ( $3,15 \pm 0,31$  %), тоді як в підгрупах НЧС та УЗ переважали запальні типи цитогам, а в підгрупі НЧС/УЗ – регенеративні (табл. 3.7). Проводячи паралель з гістологічним дослідженням, у підгрупах НЧС та УЗ – рожево зяюча грануляційна тканина, у підгрупі НЧС/УЗ – стадія активної епітелізації з пластами епітеліальних клітин. РДІ в експериментальній групі гнійних ран, що тривало не загоюються, становив  $> 1$ , у контрольній –  $< 1$ .

На 21-у добу (табл. 3.11, рис. 3.79, 3.80, 3.81) в підгрупі НЧС/УЗ відбулося повне загоєння ран вторинним натягом із формуванням рубця. Загальна кількість лейкоцитів у полях зору та відсоток деструктивних форм продовжували зменшуватись ( $p < 0,05$ ) у всіх групах, що говорить за вщухання процесів запалення.

Таблиця 3.10 – Показники клітинного складу ран, що тривало не загоюються, на 14-у добу спостереження,  $M \pm m$  ( $n = 6$ )

Елементи цитограми	Групи тварин			
	НЧС	УЗ	НЧС/УЗ	Хлоргексидин
Кількість лейкоцитів у полі зору	43,87±3,36** <sup>×</sup>	45,53±4,39** <sup>×</sup>	28,54±4,46** <sup>#</sup>	76,58±6,19*
Деструкція лейкоцитів, %	28,67±2,52** <sup>×</sup>	31,45±3,21** <sup>×</sup>	16,37±2,24** <sup>×</sup>	54,05±0,36*
Нейтрофіли, %	44,06±4,27** <sup>×</sup>	51,06±4,78** <sup>×</sup>	13,26±1,42** <sup>×</sup>	77,32±5,24*
Лімфоцити, %	2,85±0,35 <sup>#</sup>	2,79±0,26	4,27±0,62 <sup>#</sup>	2,04±0,26
Моноцити, %	2,47±0,48	2,49±0,52	3,21±0,42 <sup>#</sup>	1,59±0,24
Макрофаги, %	18,71±1,11** <sup>×</sup>	16,35±1,83** <sup>×</sup>	25,24±2,69** <sup>#</sup>	9,35±1,24*
Полібласти, %	15,42±2,18** <sup>×</sup>	13,59±2,35** <sup>×</sup>	21,15±2,32** <sup>#</sup>	5,47±1,12*
Фібробласти, %	13,24±1,24** <sup>×</sup>	10,37±1,27** <sup>#</sup>	24,94±2,07** <sup>#</sup>	3,15±0,31*
Ендотеліоцити, %	3,25±0,34** <sup>×</sup>	3,35±0,41** <sup>×</sup>	7,93±1,54** <sup>×</sup>	1,08±0,21
Епітелій	групи клітин	групи клітин	пласти клітин	поодинокі клітини

Примітки: \* – різниця вірогідна у порівнянні з 7-ю добою в межах однієї групи ( $p < 0,05$ ); # – різниця вірогідна у порівнянні з контрольною групою на 14-у добу ( $p < 0,05$ ); <sup>×</sup> – різниця вірогідна у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ на 14-у добу ( $p < 0,05$ )

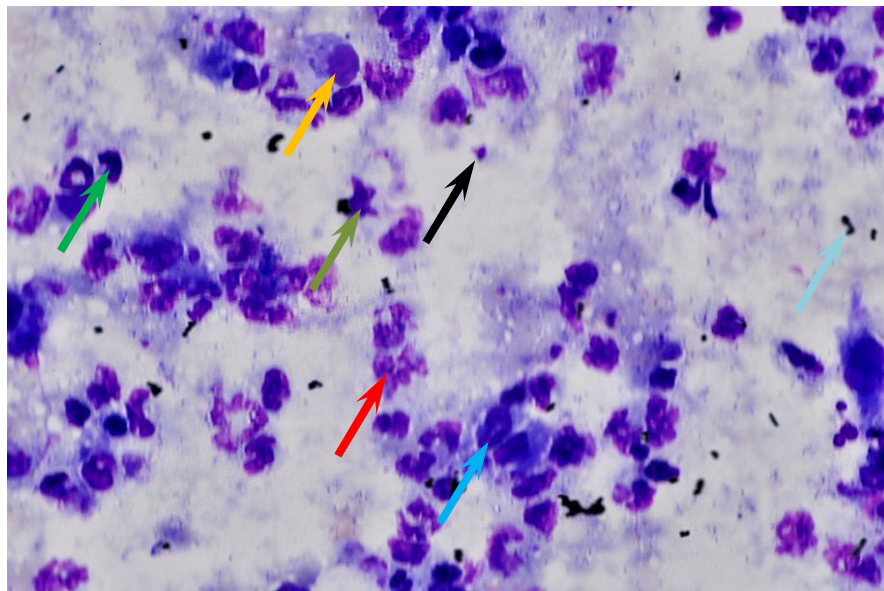


Рис. 3.75 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 14-у добу експерименту в підгрупі НЧС. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\color{red}\rightarrow$  – лейкоцит,  $\color{green}\rightarrow$  – лімфоцит,  $\color{blue}\rightarrow$  – макрофаг,  $\color{yellow}\rightarrow$  – моноцит,  $\color{lightblue}\rightarrow$  – конгломерати НЧС,  $\color{darkgreen}\rightarrow$  – нейтрофіл в стадії деструкції

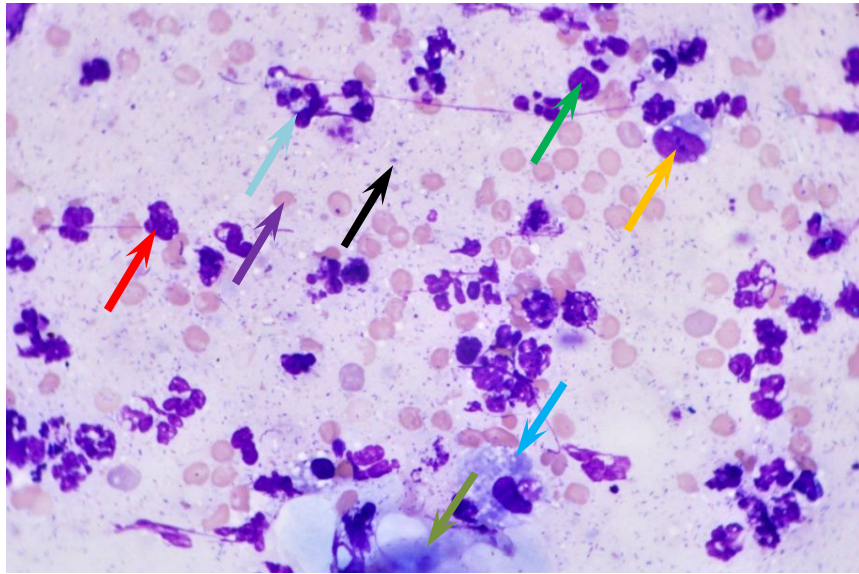


Рис. 3.76 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 14-у добу експерименту в підгрупі УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\lightbluerightarrow$  – нейтрофіл в стадії деструкції,  $\oliverightarrow$  – фібробласт

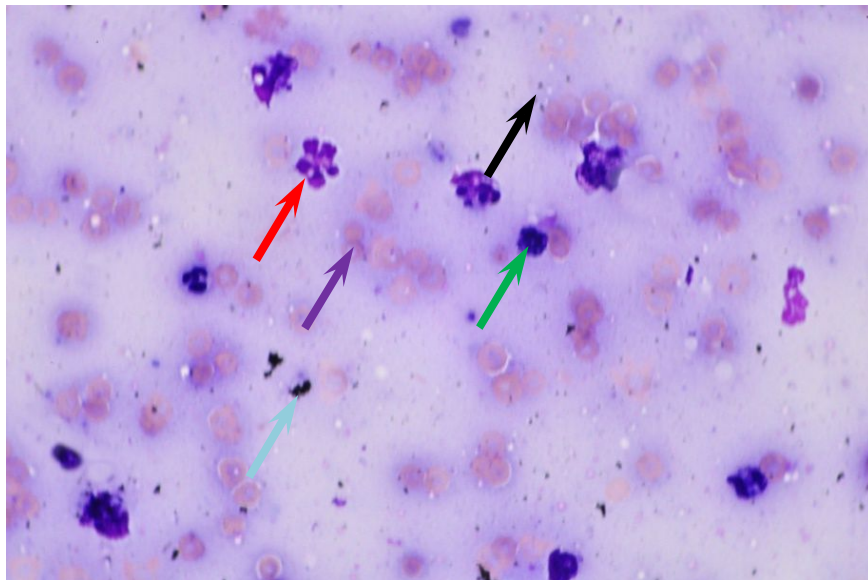


Рис. 3.77 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 14-у добу експерименту в підгрупі НЧС/УЗ. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\cyanrightarrow$  – конгломерати НЧС

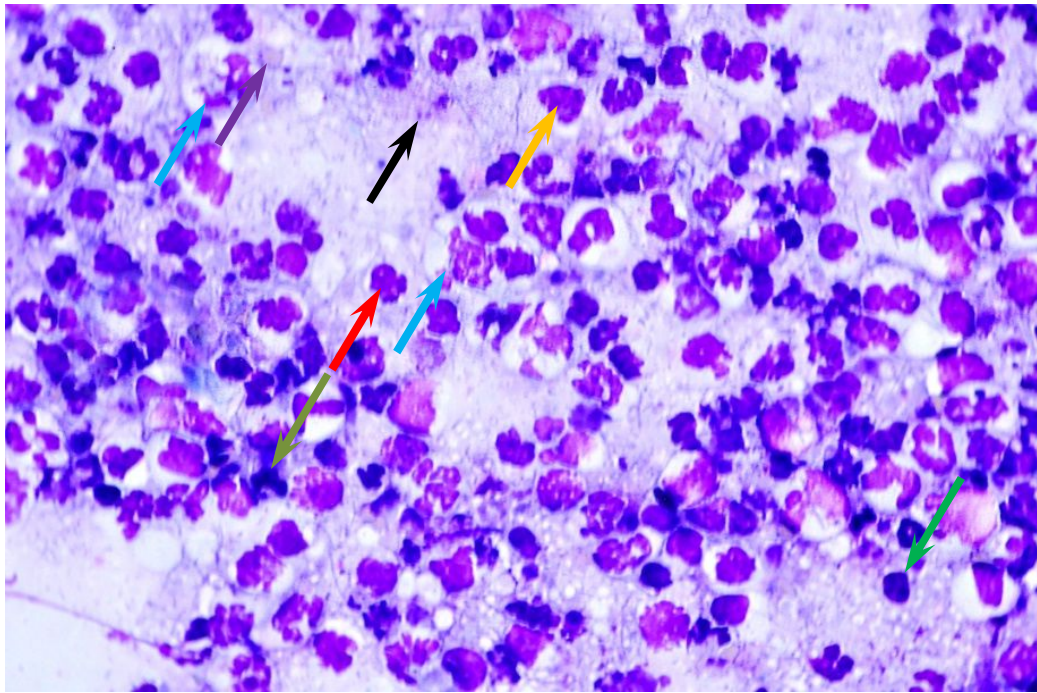


Рис. 3.78 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 14-у добу експерименту в контрольній групі. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит,  $\cyanrightarrow$  – макрофаг,  $\yellowrightarrow$  – моноцит,  $\purplerightarrow$  – еритроцит,  $\oliverightarrow$  – нейтрофіл в стадії деструкції

На відміну від контрольної групи, у підгрупах НЧС та УЗ почав зменшуватись відсоток лімфоцитів ( $1,45 \pm 0,12\%$ ;  $1,67 \pm 0,24\%$ ), моноцитів ( $0,42 \pm 0,09\%$ ;  $0,76 \pm 0,13\%$ ), макрофагів ( $14,37 \pm 2,23\%$ ;  $18,22 \pm 2,48\%$ ) та полібластів ( $12,68 \pm 2,09\%$ ;  $13,49 \pm 2,23\%$ ) з переважанням веретеноподібних фібробластів ( $34,56 \pm 3,24\%$ ;  $29,45 \pm 3,32\%$ ) та ендотеліоцитів ( $9,02 \pm 1,37\%$ ;  $8,51 \pm 1,28\%$  відповідно), ( $p < 0,05$ , табл. 3.11). Відмічався переважно регенеративний тип цитогам (у підгрупі НЧС –  $63,58\%$ , у підгрупі УЗ –  $44,57\%$ , табл. 3.7) з активними репаративними процесами. РДІ у всіх групах становив  $< 1$ .

У контрольній групі, навпаки, збільшилася загальна кількість мононуклеарних фагоцитів, серед яких переважали макрофаги ( $25,0 \pm 3,16\%$ ), що свідчило за посилення макрофагальної ланки ранового процесу. Загальний відсоток переважно зрілих фібробластів

також зріс до  $12,59 \pm 2,34$  %. Поступово відбувався перехід цитограм запальних типів у регенеративні (табл. 3.7). У цілому, цитологічні показники відтворювали картину в підгрупі НЧС/УЗ на 14-ту добу з затримкою на 7-8 днів.

Таблиця 3.11 – Показники клітинного складу гнійних ран, що тривало не загоюються, на 21-у добу спостереження,  $M \pm m$  (n = 6)

Елементи цитограми	Групи тварин			
	НЧС	УЗ	НЧС/УЗ	Хлоргексидин
Кількість лейкоцитів у полі зору	$11,47 \pm 2,54^{*#}$	$16,28 \pm 2,48^{*#}$	повне загоєння	$35,75 \pm 3,06^*$
Деструкція лейкоцитів, %	$2,25 \pm 0,84^{*#}$	$4,53 \pm 1,53^{*#}$		$32,18 \pm 1,37^*$
Нейтрофіли, %	$27,5 \pm 2,36^{*#}$	$27,9 \pm 2,55^{*#}$		$38,74 \pm 3,38^*$
Лімфоцити, %	$1,45 \pm 0,12^{*#}$	$1,67 \pm 0,24^{\#}$		$2,84 \pm 0,33$
Моноцити, %	$0,42 \pm 0,09^{*#}$	$0,76 \pm 0,13^{*#}$		$1,75 \pm 0,42$
Макрофаги, %	$14,37 \pm 2,23^{*#}$	$18,22 \pm 2,48^{*#}$		$25,0 \pm 3,16^*$
Полібласти, %	$12,68 \pm 2,09^*$	$13,49 \pm 2,23^*$		$15,74 \pm 1,44^*$
Фібробласти, %	$34,56 \pm 3,24^{*#}$	$29,45 \pm 3,32^{*#}$		$12,59 \pm 2,34^*$
Ендотеліоцити, %	$9,02 \pm 1,37^{*#}$	$8,51 \pm 1,28^{*#}$		$3,34 \pm 0,39^*$
Епітелій	пласти клітин	пласти клітин		поодинокі клітини

*Примітки:* \* – різниця вірогідна у порівнянні з 14-ю добою в межах однієї групи ( $p < 0,05$ ); # – різниця вірогідна у порівнянні з контрольною групою на 21-у добу ( $p < 0,05$ ); × – різниця вірогідна у порівнянні з підгрупою НЧС/УЗ на 21-у добу ( $p < 0,05$ )

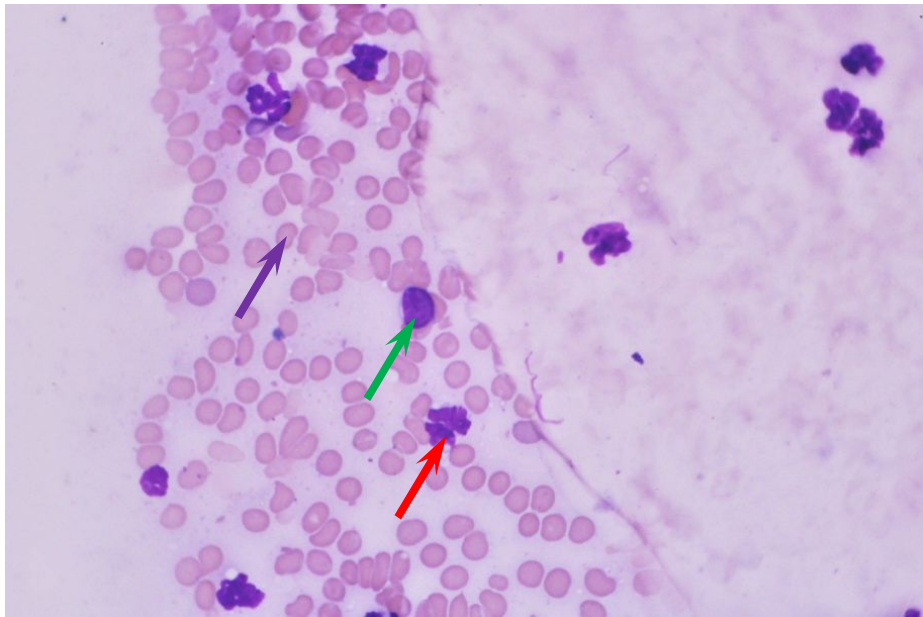


Рис. 3.79 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 21-у добу експерименту в підгрупі НЧС. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\rightarrow$  – лейкоцит,  $\rightarrow$  – лімфоцит,  $\rightarrow$  – еритроцит

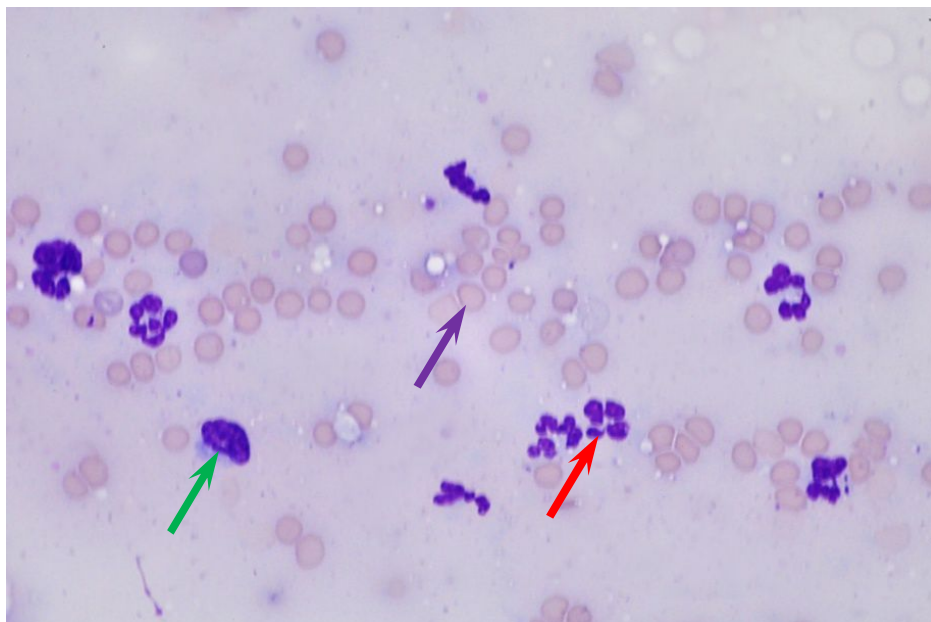


Рис. 3.80 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 21-у добу експерименту в підгрупі НЧС. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\rightarrow$  – лейкоцит,  $\rightarrow$  – лімфоцит,  $\rightarrow$  – еритроцит

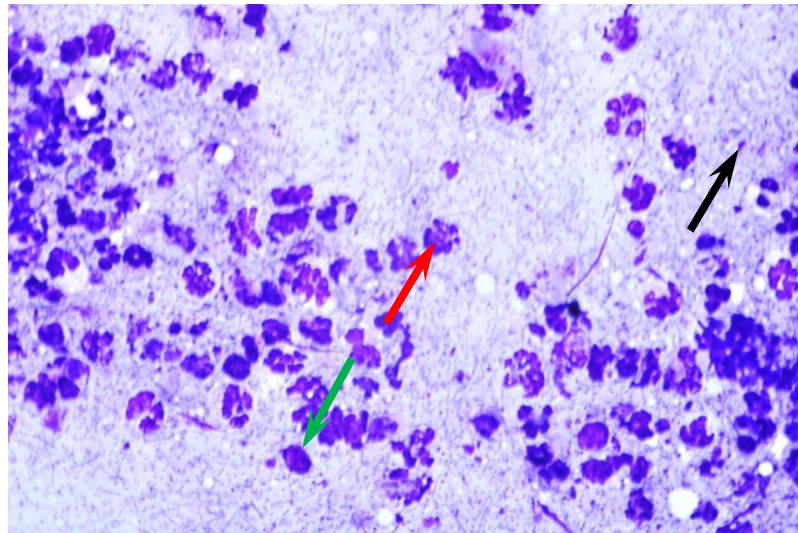


Рис. 3.81 – Цитологічна картина поверхні гнійних ран, що тривало не загоюються, на 21-у добу експерименту в підгрупі НЧС. Збільшення  $\times 1000$ . Забарвлення за Романовським – Гімзою.  $\blackrightarrow$  – бактерії,  $\redrightarrow$  – лейкоцит,  $\greenrightarrow$  – лімфоцит

Отже, дані цитологічного дослідження гнійних ран, що тривало не загоюються, вказують на швидші процеси загоєння ран в підгрупі НЧС/УЗ порівняно з контрольною групою: спостерігалось більш швидке зменшення кількості лейкоцитів у полі зору та відсотку їх деструкції, більш швидка активація клітин моноцитарно-макрофагального ряду, поява фібробластів та епітеліальних клітин і, як наслідок – швидша зміна типів цитогам від некротичного до регенеративного. Цитологічними дослідженням підтверджено, що поєднана терапія НЧС/УЗ має переваги перед монотерапією НЧС та УЗ.

### 3.7 Дослідження резорбтивної дії НЧС

Дослідження концентрацій срібла в крові щурів в умовах лікування гострого гнійного ранового процесу із застосуванням НЧС та НЧС/УЗ не виявило статистично достовірних відмінностей ( $p > 0,05$ ) з контрольною групою без застосування НЧС. Концентрації срібла в усіх підгрупах коливались у межах від 0,06 мкг/л до 0,15 мкг/л (рис. 3.82).

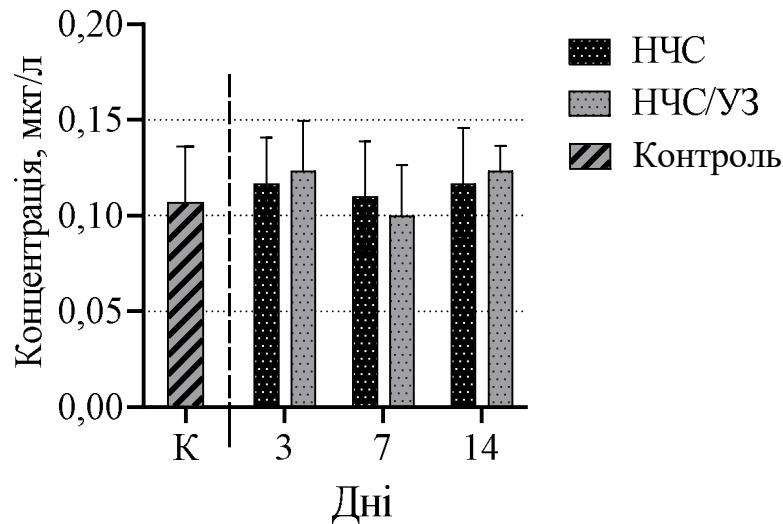


Рис. 3.82 – Концентрація срібла в крові щурів протягом лікування гострого гнійного ранового процесу в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ ( $p > 0,05$ )

Дослідження концентрацій срібла в крові щурів у процесі лікування гнійних ран, що тривало не загоюються, із застосуванням НЧС та НЧС/УЗ не виявило статистично достовірних відмінностей ( $p > 0,05$ ) з контрольною групою без застосування НЧС. Концентрації срібла в усіх підгрупах коливались у межах від 0,06 мкг/л до 0,16 мкг/л (рис. 3.83).

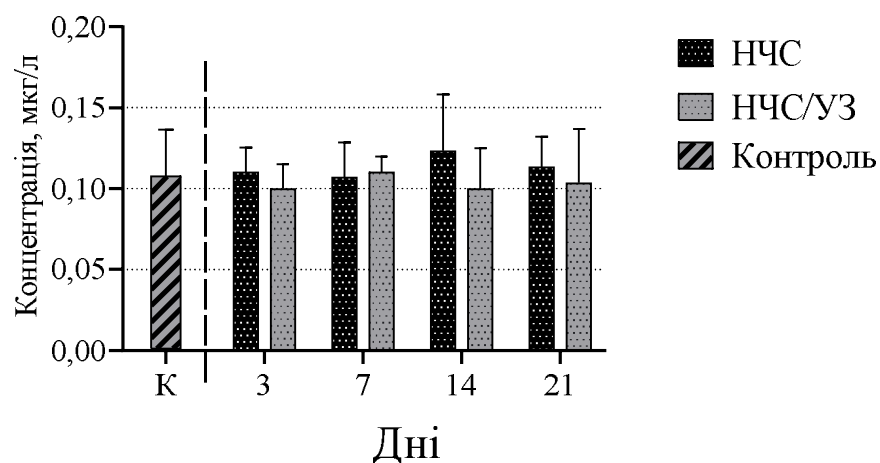


Рис. 3.83 – Концентрація срібла в крові щурів протягом лікування гнійних ран, що тривало не загоюються, в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ ( $p > 0,05$ )



### 3.8 Дослідження вмісту срібла в тканинах гнійних ран щурів після застосування НЧС та НЧС/УЗ.

#### 3.8.1 Дослідження вмісту срібла в тканинах гострих гнійних ран

Точковий елементний аналіз показав відсутність будь-яких слідів срібла на різних глибинах з інтервалом дослідження в 10 мкм.

На 3-ю добу на поверхні гострих гнійних ран (ділянка 1)  $w(\text{Ag})\%$  становив  $0,37 \pm 0,16 \%$  у підгрупі НЧС та  $0,31 \pm 0,18 \%$  у підгрупі НЧС/УЗ ( $p > 0,05$ ). У більш глибоких шарах м'яких тканин (ділянки 2 та 3)  $w(\text{Ag})\%$  становив протягом експерименту  $0 \%$  як у підгрупі НЧС, так і в підгрупі НЧС/УЗ (рис. 3.84).

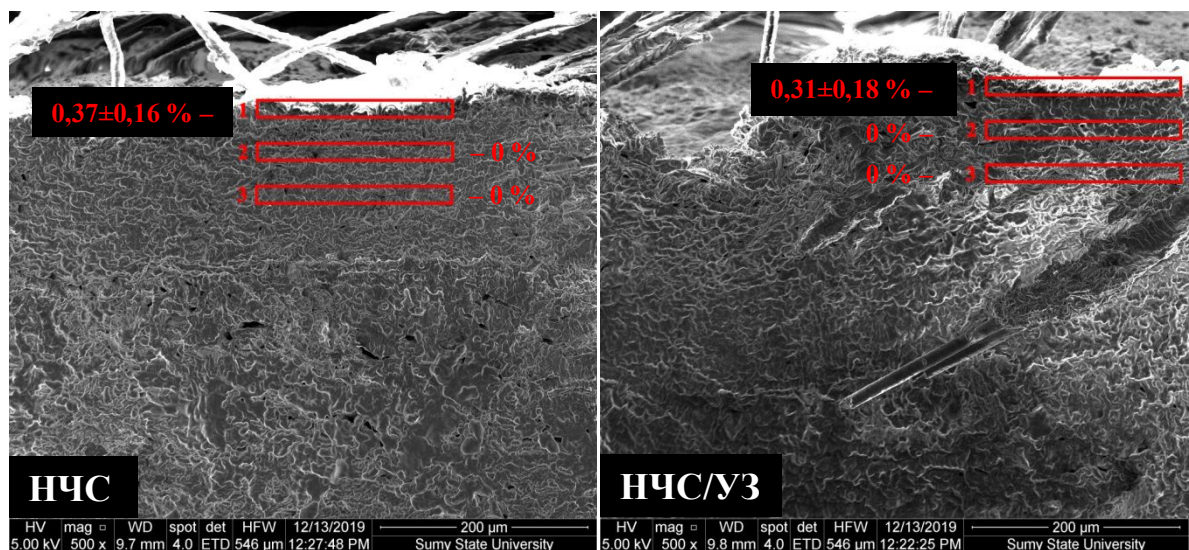


Рис. 3.84 – Растрова електронна мікроскопія та вміст срібла в тканинах гострих гнійних ран на 3-тю добу експерименту в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ; ділянки 1, 2, 3;  $w(\text{Ag})\%$

На 7-му добу  $w(\text{Ag})\%$  на поверхні гнійних ран в обох підгрупах був достовірно ( $p < 0,05$ ) вищим порівняно з 3-ю добою (НЧС –  $1,24 \pm 0,54 \%$ , НЧС/УЗ –  $1,12 \pm 0,52 \%$ ), без достовірної відмінності між підгрупами ( $p > 0,05$ , рис. 3.85). На поперечних зрізах гнійних ран залишків срібла не було виявлено.

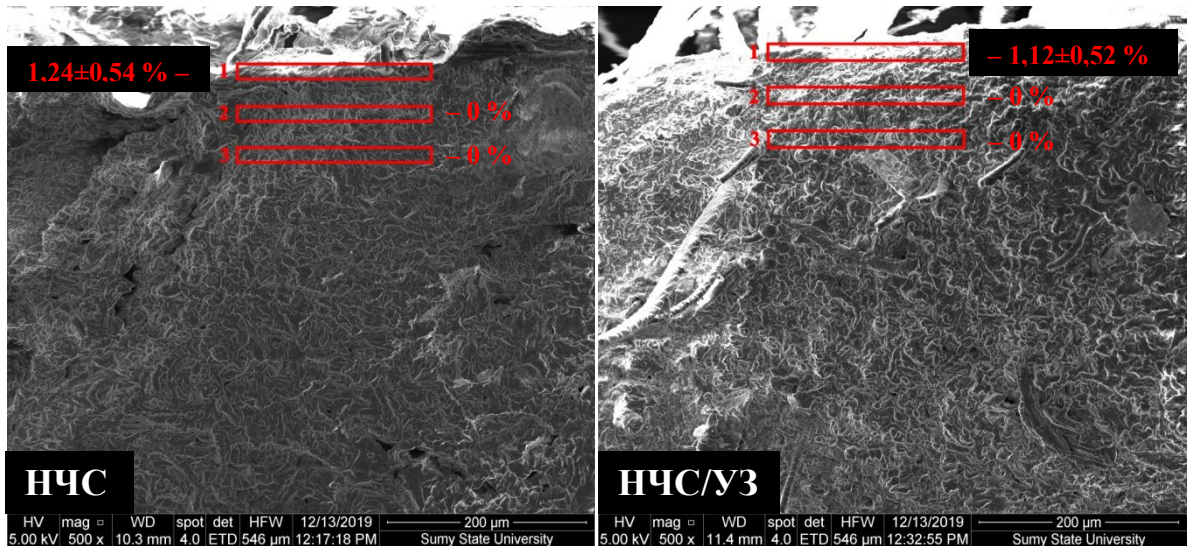


Рис. 3.85 – Растрова електронна мікроскопія та вміст срібла в тканинах гострих гнійних ран на 7-у добу експерименту в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ; ділянки 1, 2, 3;  $w(\text{Ag})\%$

На 14-ту добу  $w(\text{Ag})\%$  на поверхні гнійних ран збільшився в обох підгрупах (НЧС –  $2,01 \pm 0,72 \%$  НЧС/УЗ –  $1,96 \pm 0,78 \%$ ) порівняно з 7-ю добою, однак значущих відмінностей між 7-ю та 14-ю добою спостереження не було виявлено ( $p > 0,05$ , рис. 3.86). На поперечних зрізах гнійних ран залишків срібла не було виявлено.

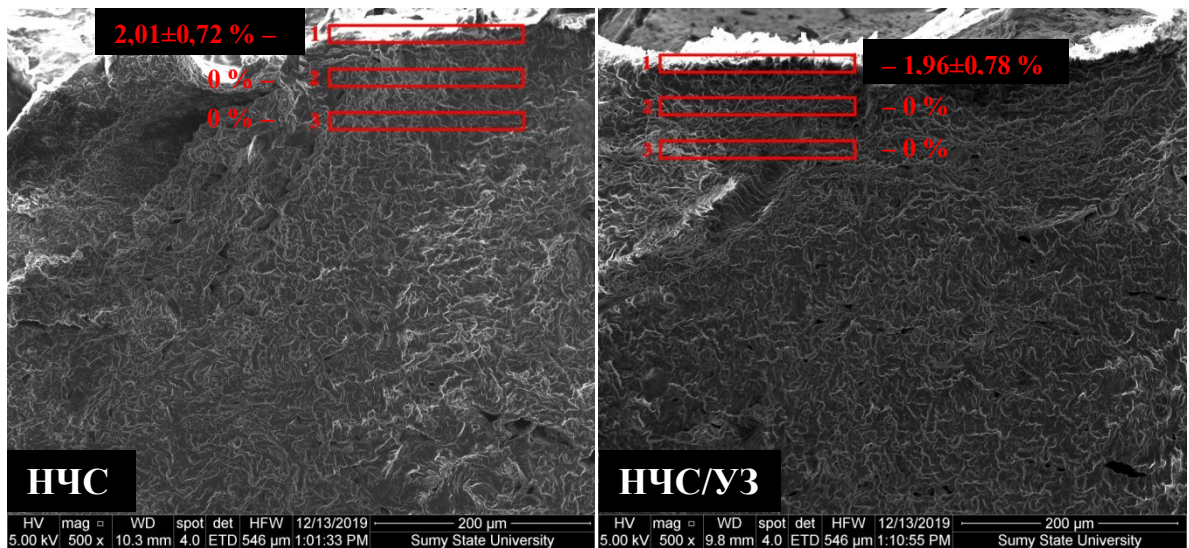


Рис. 3.86 – Растрова електронна мікроскопія та вміст срібла в тканинах гострих гнійних ран на 14-у добу експерименту в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ; ділянки 1, 2, 3;  $w(\text{Ag})\%$

Отже, срібло визначалось переважно на поверхні гнійних ран, відсоток якого збільшувався в більш пізні терміни експерименту, а в товщині ран не було виявлено жодних слідів  $w(\text{Ag})\%$ , що говорить про відсутність накопичення срібла в товщі тканин гострих гнійних ран на глибині 25-90 мкм протягом 14-ти днів спостереження.

### 3.8.2 Дослідження вмісту срібла в тканинах гнійних ран, що тривало не загоюються

Точковий елементний аналіз показав відсутність будь-яких слідів срібла на різних глибинах з інтервалом дослідження в 10 мкм.

На 3-ю добу  $w(\text{Ag})\%$  на поверхні гнійних ран (ділянка 1) становив  $0,41 \pm 0,23 \%$  у підгрупі НЧС та  $0,39 \pm 0,27 \%$  у підгрупі НЧС/УЗ ( $p > 0,05$ ). У більш глибоких шарах м'яких тканин (ділянки 2 та 3) протягом експерименту  $w(\text{Ag})\%$  становив  $0 \%$  як у підгрупі НЧС, так і в підгрупі НЧС/УЗ, (рис. 3.87).

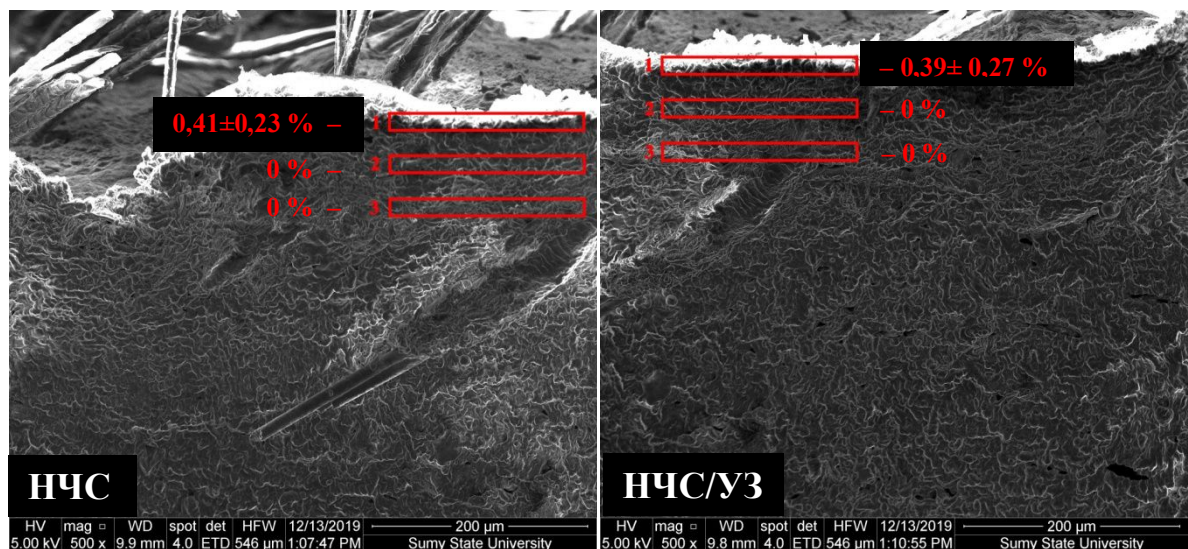


Рис. 3.87 – Растрова електронна мікроскопія та вміст срібла в тканинах гнійних ран, що тривало не загоюються, на 3-ю добу експерименту в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ; ділянки 1, 2, 3;  $w(\text{Ag})\%$

На 7-му добу на поверхні гнійних ран визначався достовірно ( $p < 0,05$ ) вищий  $w(\text{Ag})\%$  в обох підгрупах порівняно з 3-ю добою (НЧС –  $2,36 \pm 1,43 \%$ , НЧС/УЗ –  $2,08 \pm 1,67 \%$ ), однак різниці між підгрупами не було виявлено ( $p > 0,05$ , рис. 3.88). На поперечних зрізах гнійних ран залишків срібла не було виявлено.

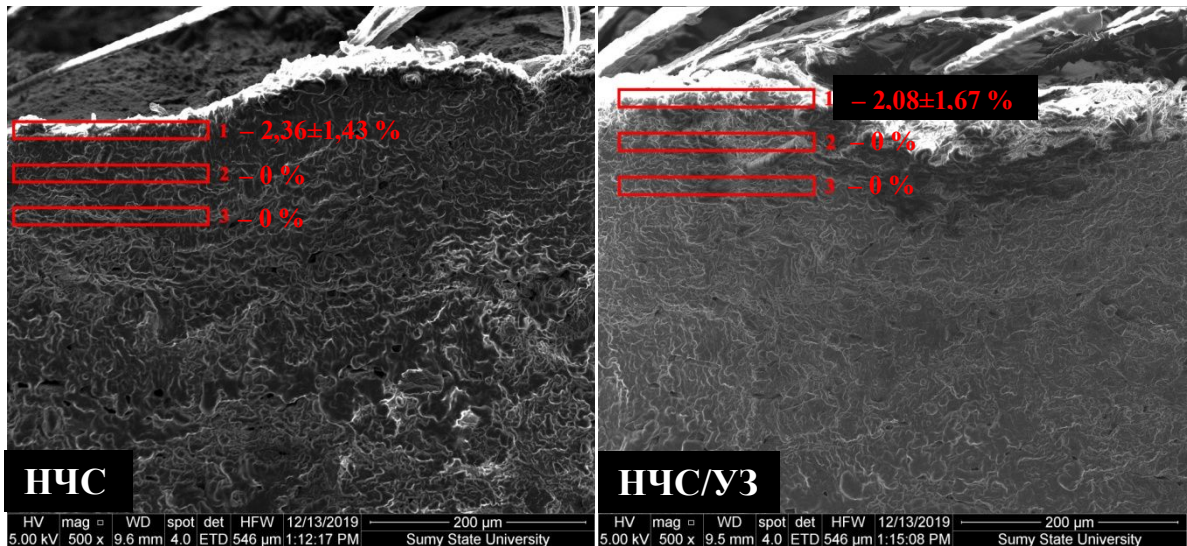


Рис. 3.88 – Растрова електронна мікроскопія та вміст срібла в тканинах гнійних ран, що тривало не загоюються, на 7-у добу експерименту в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ; ділянки 1, 2, 3;  $w(\text{Ag})\%$

На 14-ту добу на поверхні гнійних ран  $w(\text{Ag})\%$  збільшився в обох підгрупах (НЧС –  $3,52 \pm 1,64 \%$ , НЧС/УЗ –  $3,15 \pm 1,23 \%$ ), порівняно з 7-ю добою, однак значущих відмінностей між 7-ю та 14-ю добою спостереження не було виявлено ( $p > 0,05$ ), (рис. 3.89). На поперечних зрізах гнійних ран залишків срібла не було виявлено.

На 21-у добу відзначалося незначне збільшення  $w(\text{Ag})\%$  в обох підгрупах (НЧС –  $3,77 \pm 1,76 \%$ , НЧС/УЗ –  $3,57 \pm 1,64 \%$ ,  $p > 0,05$ ), порівняно з попереднім періодом, однак значущих відмінностей між 14-ю та 21-ю добою спостереження не було виявлено ( $p > 0,05$ ). У підгрупі НЧС на глибині 25-45 мкм від поверхні  $w(\text{Ag})\%$  становив  $0,08 \pm 0,06 \%$  (рис. 3.90).

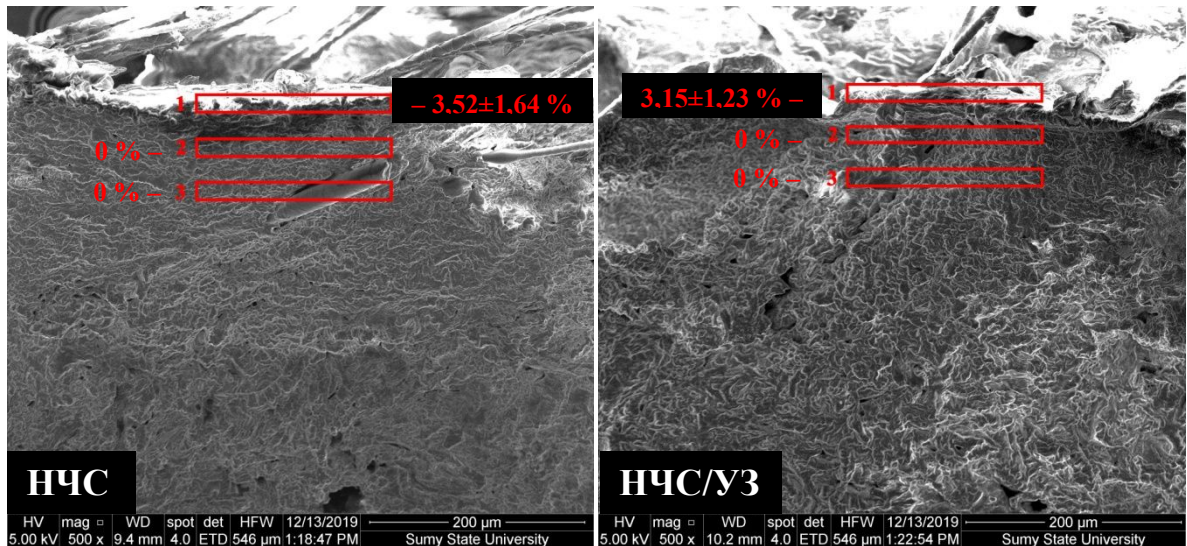


Рис. 3.89 – Растрова електронна мікроскопія та вміст срібла в тканинах гнійних ран, що тривало не загоюються, на 14-у добу експерименту в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ; ділянки 1, 2, 3;  $w(\text{Ag})\%$

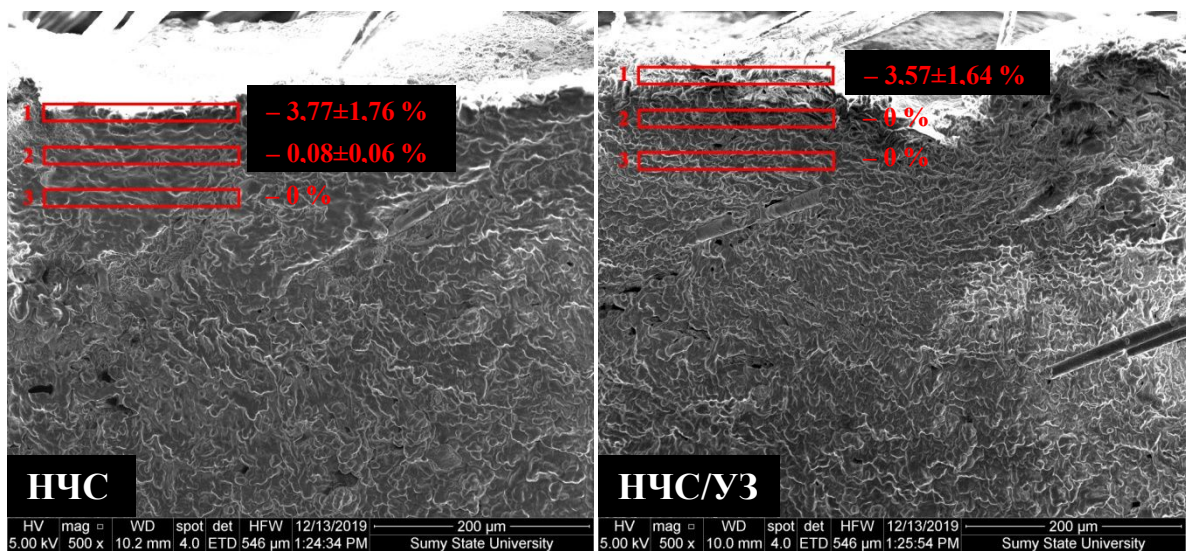


Рис. 3.90 – Растрова електронна мікроскопія та вміст срібла в тканинах гнійних ран, що тривало не загоюються, на 21-у добу експерименту в підгрупах НЧС та НЧС/УЗ; ділянки 1, 2, 3;  $w(\text{Ag})\%$

Срібло визначалося переважно на поверхні гнійних ран, відсоток якого збільшувався в більш пізні терміни експерименту, і лише незначна його кількість була виявлена на глибині 25-45 мкм від поверхні в підгрупі НЧС на 21-шу добу в ранах, що тривало не загоюються.

Можна зробити висновок, що при місцевому використанні НЧС як у якості монотерапії, так і у поєднанні з низькочастотним УЗ, НЧС не проникають в товщу тканин ранового дефекту протягом 14-ти днів застосування, однак є тенденція до накопичення НЧС безпосередньо на поверхні гнійних ран.

Основні результати розділу опубліковані у працях [261, 266 – 284].

## РОЗДІЛ 4

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Незважаючи на значні успіхи сучасної хірургії, профілактика та лікування гнійної хірургічної інфекції залишається складною проблемою, що пов'язано з поширенням резистентних мікроорганізмів та великим числом побічних реакцій на лікарські засоби [3].

У наш час кількість хворих з гнійно-запальними захворюваннями та післяопераційними ускладненнями не має тенденції до зменшення [2]. За поширеністю, гнійна хірургічна інфекція займає третє місце після серцево-судинних та онкологічних захворювань [285]. Майже кожний третій хворий хірургічного стаціонару страждає від гнійної хірургічної інфекції, а післяопераційні гнійні ускладнення сягають 90-95 % від загальної кількості внутрішньо-лікарняних інфекцій [2]. Кількість летальних наслідків, зумовлених післяопераційними гнійними ускладненнями не має тенденції до скорочення та складає 20-64,7 % [11].

Загоєння рани – це єдиний активний динамічний природний процес, який починається відразу з моменту пошкодження та направлений на відновлення анатомічної та функціональної цілісності пошкоджених тканин. Репаративний процес включає механізми гемостазу, запалення, проліферації та ремоделювання [116].

Хронічне запалення запускається тими ж механізмами, що й гостре, але розвивається повільно внаслідок персистенції інфекційного агенту чи функціональної недостатності захисних реакцій організму [287].

Етапи ранового процесу мають певну послідовність при гострому перебігу, змінюючи один одного. Кожна фаза запального процесу функціонально детермінована і готує вогнище запалення до наступного етапу [50]. Ексудативно-деструктивний період запалення характеризується формуванням запального набряку, лейкоцитарною інфільтрацією, деструкцією мікроорганізмів і пошкодженням тканинних структур. Черговим

етапом є фаза макрофагальних реакцій, яка характеризується зменшенням запального набряку, фагоцитозом і представляє собою підготовчий етап для репаративних процесів. Репаративний період завершує запальний процес формуванням грануляційної тканини, що заповнює рановий дефект.

Таким чином, при гострому рановому процесі саме ексудативно-деструктивний період запускає наступні етапи запального процесу. На кожному етапі у вогнищі запалення створюються певні умови, у яких здатні «працювати» клітини, що реалізують цей етап, а перебіг кожної фази визначається ступенем завершеності попередньої. Наведені закономірності свідчать за високу значимість механізмів ауторегуляції запалення, що визначає оптимальність перебігу цього процесу.

На відміну від гострого ранового процесу, при хронічному порушується послідовність етапів запального процесу, які починають протікати паралельно і нашаровуються за часом один на одного, порушуючи (або змінюючи) мікрооточення, яке оптимальне для клітин різних фаз запалення, що призводить до зниження їх функціональної активності. З цього випливає, що тактика лікування ран, які тривало не загоюються, повинна бути спрямована на відновлення послідовності етапів запального процесу. Цю послідовність можна досягти шляхом стимуляції ексудативно-деструктивних процесів, які запускають наступні етапи.

Неабияке значення в хронізації процесу відіграють мікроорганізми. Високий рівень бактеріального обсіменіння (вище  $10^5$  КУО/мл) та бактеріальні токсини викликають та посилюють запальні реакції. Клітини запального ряду а також самі бактерії продукують ряд протеаз, у тому числі й матриксні металопротеїнази, які руйнують позаклітинний матрикс та інгібують фактори росту. Бактерії, які колонізують хронічні рани, часто існують у вигляді полімікробних утворень – біоплівки, які складаються з мікробних клітин, вбудованих в полімерну матрицю, яка забезпечує оптимальне середовище для їх виживання, дозволяє їм уникати імунного захисту господаря та робить їх стійкими до антибактеріальних препаратів.



Традиційно з метою лікування інфікованих ран застосовують антисептики та комбіновані препарати, що містять антибіотики. На початку лікування це дає позитивні результати [286], однак, з часом, під впливом антибіотиків змінюється склад ранової мікрофлори, з'являються антибіотикорезистентні форми мікроорганізмів, і запалення переходить в затяжний перебіг. Погіршення результатів лікування інфікованих ран внаслідок прогресуючого зниження «прямої» дії антибіотиків на мікробну клітину вимагає пошуку нових засобів та методів впливу на рановий процес.

У нашому експериментальному дослідженні був розроблений та апробований новий оригінальний спосіб лікування експериментальних гострих гнійних ран та гійних ран, що тривало не загоюються, який полягає в поєднаному застосуванні хімічного та фізичного методу впливу з використанням НЧС та низькочастотного УЗ.

НЧС були нами синтезовані швидким, зручним, економічно виправданим поліольним методом. Дослідження фізико-хімічних характеристик виявило, що синтезовані НЧС були переважно сферичної, однотипної форми, з розмірами 25-60 нм.

НЧС виявили високу антимікробну активність проти грампозитивних та грамнегативних збудників хірургічної інфекції *in vitro* та *in vivo*. МІК НЧС коливалась в межах 12,5 мкг/мл – 25 мкг/мл, а МБК – від 12,5 мкг/мл до 50 мкг/мл. Поєднане застосуванні НЧС та УЗ дозволило різко скоротити бактеріостатичну та бактерицидну концентрації НЧС. Наприклад, для *S. aureus* МІК зменшилася до 0,05 мкг/мл, а МБК до 0,1 мкг/мл; для *P. aeruginosa* МІК зменшилася до 0,05 мкг/мл, а МБК до 0,2 мкг/мл; для *E. coli* – до 0,4 мкг/мл та 0,8 мкг/мл відповідно.

Подібні результати отримали й інші дослідники – К. Szczepanowicz із співавт., які вивчали антибактеріальну активність синтезованих НЧС з розмірами, які не перевищують 20 нм, проти мультирезистентних штамів *S. epidermidis*, *S. aureus* та *P. aeruginosa*. За їхніми даними МІК НЧС коливався від 5 мкг/мл до 20 мкг/мл [175].

N. V. Ayala-Núñez зі співавт. вказують на те, що антибактеріальна активність НЧС залежить від їх фізико-хімічних характеристик, зокрема розмірів: зі зменшенням останніх посилюється бактеріостатична та бактерицидна дія. НЧС розмірами 30-40 нм показали МІК та МБК при 10,79 мкг/мл по відношенню до метицилін-резистентного *S. aureus*. Однак, N. V. Ayala-Núñez зі співавт. вказують, що зі зменшенням розмірів НЧС посилюється їх цитотоксична дія [176].

За даними М. А. Ansari зі співавт., МІК НЧС по відношенню до метицилін-резистентних *S. aureus* та *S. epidermidis* становила 11,25-45,0 мкг/мл [288], а для досягнення антибіоплівкового ефекту концентрація НЧС повинна бути не меншою ніж 50 мкг/мл.

Динаміка зміни кількості мікроорганізмів показала, що при застосуванні НЧС більшість бактерій (окрім *P. vulgaris*) гине через 1 добу, в той час як при поєднаному застосуванні НЧС та УЗ переважна більшість мікроорганізмів загинула через 3 год. Найбільш відчутне скорочення динаміки відмічалось на прикладі *S. pyogenes* та *P. vulgaris*, які загинули через 1 год після поєданого застосування НЧС та УЗ. Не було відмінностей у динаміці загибелі *C. albicans* (в першому та другому випадку мікроорганізми гинули через 3 год) та в динаміці *K. pneumoniae* (через 24 год). Проте, при дослідженні *S. aureus* було відмічено подовження періоду загибелі від 1 год (при застосуванні НЧС) до 24 год (при поєднаному застосуванні).

На першу добу експерименту НЧС виявили антибіоплівкову активність в концентраціях, еквівалентних 20 МІК, по відношенню до всіх досліджуваних мікроорганізмів, окрім *S. aureus*, а при поєднаному застосуванні НЧС та низькочастотного УЗ при аналогічних концентраціях метаболічної активності біоплівок не було виявлено у жодного збудника. На 3-тю добу спостереження не було виявлено жодного збудника, біоплівки якого загинули б при концентрації НЧС, еквівалентній 20 МІК, тоді як при поєднаному застосуванні НЧС та УЗ більшість лунок з біоплівками

мікроорганізмів (окрім *P. vulgaris*) при концентраціях НЧС, еквівалентних 10 МІК, мала відсоток редукції 0 %, що вказувало на відсутність метаболічної активності. На 7-му добу при поєднаному застосуванні НЧС та УЗ при концентраціях НЧС, еквівалентних 10 МІК, метаболічна активність біоплівки була відсутньою у всіх досліджуваних мікроорганізмах, на відміну від лунок з використанням НЧС без УЗ, де при аналогічних концентраціях спостерігався ріст біоплівки всіх мікроорганізмів.

Дослідження цитотоксичності НЧС на культурі дермальних фібробластів показали відсутність токсичності НЧС через 24 год при концентраціях НЧС, які не перевищують 3,2 мкг/мл, та через 72 год – при концентраціях, які не перевищують 1,6 мкг/мл. Поєднане застосування НЧС з низькочастотним УЗ призводить до посилення антимікробної активності НЧС, що дає можливість використовувати їх у концентраціях, які не перевищують порогу цитотоксичності.

Результати експериментального дослідження на лабораторних щурах *in-vivo* з поєднаним використанням НЧС та низькочастотного УЗ виявили позитивну динаміку загоєння та прискорення всіх фаз ранового процесу гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються (рис. 4.1).

Планіметричні дослідження ран показали, що найшвидше загоєння відбувалось у підгрупі НЧС/УЗ як при гострому гнійному процесі (на  $9,9 \pm 0,5$  добу), так і при гнійних ранах, що тривалий час не загоюються (на  $20,3 \pm 0,7$  добу). Застосування НЧС разом з низькочастотним УЗ дозволяє скоротити терміни загоєння на 11,3 діб ( $p \leq 0,0001$ ) при лікуванні гострих гнійних ран, та на 6,9 діб ( $p < 0,05$ ) при лікуванні ран, що тривало не загоюються у порівнянні з контрольною групою. Із цього випливає, що запропонований нами спосіб лікування з поєднаним використанням НЧС та УЗ більш дієвий та ефективний при лікуванні гострих гнійних процесів.

Застосування НЧС разом з низькочастотним УЗ дозволяє також скоротити терміни загоєння на 5,1 діб ( $p < 0,05$ ) при лікуванні гострих гнійних ран, та на 2,9 доби ( $p < 0,05$ ) при лікуванні ран, що тривало не загоюються, в

порівнянні з підгрупою НЧС. Поєднання НЧС та низькочастотного УЗ дозволяє скоротити терміни загоєння на 2,2 доби ( $p < 0,05$ ) при лікуванні гострих гнійних ран, та на 4,2 доби ( $p < 0,05$ ) при лікуванні гнійних ран, що тривало не загоюються, в порівнянні з підгрупою УЗ.

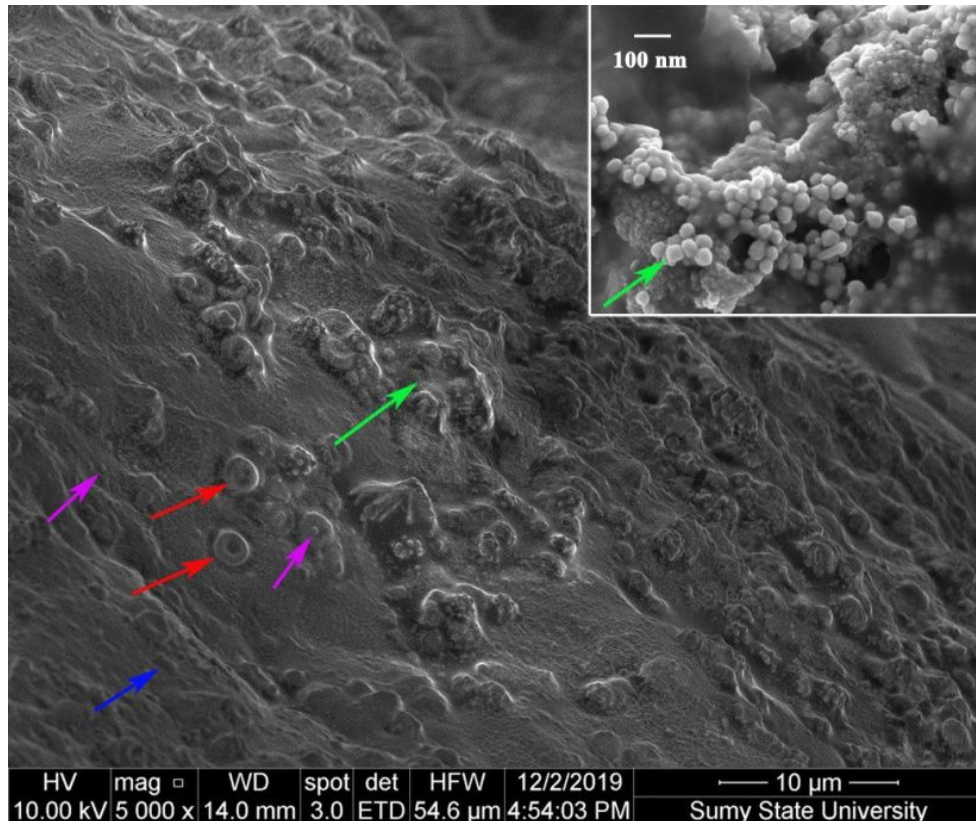


Рис. 4.1. – Скануюча електронна мікроскопія поверхні гнійних ран на 7-му добу експерименту після обробки НЧС та низькочастотним УЗ, **→** – еритроцити, **→** – НЧС, **→** – паличкоподібні бактерії, **→** – кокоподібні бактерії. Збільшення  $\times 5000$

Слід також відмітити кращі темпи загоєння в підгрупах НЧС та УЗ, порівняно з контрольною групою. Використання НЧС у якості антисептичного засобу з метою обробки гнійних вогнищ дозволило скоротити терміни лікування на 6,2 діб ( $p < 0,05$ ) при лікуванні гострих гнійних ран, та на 4,0 доби ( $p < 0,05$ ) при лікуванні ран, що тривало не загоюються, у порівнянні з контрольною групою. Використання низькочастотного УЗ дозволило скоротити терміни лікування на 9,1 діб ( $p <$

0,05) при лікуванні гострих гнійних ран, та на 2,7 доби ( $p < 0,05$ ) при лікуванні ран, що тривало не загоюються, у порівнянні з контрольною групою. Отримані дані також підтверджують порівняно кращий ефект НЧС та УЗ при гострих гнійних процесах, ніж при хронічних.

При порівнянні підгруп НЧС та УЗ між собою при гострих гнійних ранах достовірно ефективнішим буде використання УЗ (скорочення терміну загоєння на 2,9 доби,  $p < 0,05$ ). При порівнянні підгруп НЧС та УЗ між собою при гнійних ранах, що тривало не загоюються, статистично значущих відмінностей не було виявлено ( $p > 0,05$ ).

Кращі показники ЗПР за одну добу спостерігались у обох підгрупах НЧС/УЗ протягом всього експерименту, причому в підгрупі гострих гнійних ран показник ЗПР зростав з кожним наступним періодом спостереження і був найбільшим в останній період (з 7-ої по 14-ту добу), тоді як в серії гнійних ран, що тривало не загоюються, у період з 3-ої по 7-му добу показник ЗПР дещо зменшився (з 4,19 % до 3,16 % за одну добу), після чого почав зростати, але повільніше, ніж в серії з гострими гнійними ранами.

Показник СерШЗРП виявився найкращим в підгрупах НЧС/УЗ: він удвічі перевищував аналогічний показник групи контролю при лікуванні гострих гнійних ран, та в 1,34 рази – при лікуванні гнійних ран, що тривало не загоюються. Показник СерШЗРП був у всіх підгрупах та в контрольній групі вищим в серії гострих гнійних ран, ніж в серії гнійних ран, що тривало не загоюються, що вказує на швидші процеси загоєння в гострих гнійних ранах.

Протягом експерименту було виявлено, що терміни очищення ран від гнійно-некротичних тканин, початок дозрівання грануляційної тканини та епітелізації були коротшими в підгрупах НЧС/УЗ при лікуванні гострих гнійних ран та ран, що тривало не загоюються, порівняно з традиційним способом лікування. Повне очищення ран від гнійно-некротичних тканин в підгрупі НЧС/УЗ при лікуванні гострих гнійних ран спостерігалось на 4,6 доби раніше ( $p < 0,05$ ), ніж у групі контролю, початок формування

грануляційної тканини – на 5,1 діб раніше ( $p < 0,05$ ), початок епітелізації – на 4,5 доби ( $p < 0,05$ ). Застосування НЧС разом з УЗ при лікуванні ран, що тривало не загоюються, дозволило скоротити терміни відторгнення некрозу на 6,5 діб ( $p < 0,05$ ), появу грануляцій та епітеліальної тканини на 3,7 та 4,7 діб ( $p < 0,05$ ), відповідно.

Окрім того, в підгрупах із застосуванням НЧС/УЗ було відмічено зменшення перифокального набряку, гіперемії та гнійно-фібринозної ексудації, порівняно з контрольними групами.

Переваги поєднаного використання НЧС та низькочастотного УЗ при лікуванні гнійних захворювань м'яких тканин підтверджують результати мікробіологічного моніторингу ран. Отримані дані свідчать, що окреме та поєднане застосування НЧС та УЗ призводить до швидшого зниження рівня бактеріального забруднення, у порівнянні з групою контролю, і є рушійним фактором у загоєнні гнійних ран. Однак, найбільш значущий антибактеріальний ефект спостерігався при поєднаному застосуванні НЧС та УЗ.

Достовірне зменшення ( $p < 0,05$ ) бактеріальної забрудненості в підгрупах НЧС/УЗ гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються, порівняно з контрольною групою, було помітне вже з 3-ої доби експерименту. Достовірна різниця ( $p < 0,05$ ) в підгрупі НЧС гострих гнійних ран була помітна з 3-ої доби експерименту, а при лікуванні гнійних ран, що тривало не загоюються – з 5-ої доби, порівняно з контрольною групою. На відміну від підгруп НЧС, обсіменіння гострих гнійних ран з використанням УЗ відчутно ( $p < 0,05$ ) знизилось на 7-му добу експерименту, а в ранах, що тривало не загоюються – на 5-ту добу ( $p < 0,05$ ).

Майже повне очищення гострих гнійних ран від бактеріальних збудників у підгрупі НЧС/УЗ настало на 7-му добу, тоді як у підгрупі НЧС/УЗ гнійних ран, що тривало не загоюються – на 21-шу добу ( $p < 0,05$ ). Повне очищення гострих гнійних ран в підгрупах НЧС та УЗ настало на 14-ту добу експерименту, а гнійних ран, що тривало не загоюються – на

21-шу добу ( $p < 0,05$ ). У контрольній групі бактеріальні збудники продовжували висіватися на 14-ту добу в гострих гнійних ранах, та на 21-шу добу в ранах, що тривало не загоюються ( $p < 0,05$ ). У всіх підгрупах бактеріальна забрудненість тривала довше в ранах, що тривало не загоюються.

Порівнюючи результати окремо по збудникам, можна зробити висновок, що в підгрупах НЧС/УЗ найкращий антибактеріальний ефект спостерігався відносно *S. aureus*, який припинив висіватися на 5-ту добу в серії гострих гнійних ран, та на 14-ту – у серії ран, що тривало не загоюються ( $p < 0,05$ ). Найбільш стійким збудником при поєднаному застосуванні НЧС та УЗ виявилася *P. aeruginosa*, яка припинила висіватися на 7-му добу в серії гострих гнійних ран, та на 21-шу добу – у серії ран, що тривало не загоюються ( $p < 0,05$ ).

Використання НЧС також було ефективнішим в боротьбі проти *S. aureus*, який перестав висіватися на 7-му добу ( $p < 0,05$ ) в серії гострих гнійних ран, тоді як *E. coli* та *P. aeruginosa* продовжували висіватися до 14-ої доби ( $p < 0,05$ ).

При лікуванні ран, що тривало не загоюються, за допомогою НЧС, усі збудники були ерадиковані на 21-шу добу ( $p > 0,05$ ). Також не було різниці у швидкості елімінації збудників у серії ран, що тривало не загоюються, при лікуванні УЗ – усі збудники припинили висіватися на 21-шу добу ( $p > 0,05$ ).

Застосування низькочастотного УЗ при лікуванні гострих гнійних ран виявилось більш ефективним проти *E. coli* та *P. aeruginosa*, які загинули на 10-ту добу експерименту ( $p < 0,05$ ), тоді як *S. aureus* – на 14-ту ( $p < 0,05$ ).

Слід відмітити, що в контрольній групі серії гнійних ран, що тривало не загоюються, всі збудники висівались на 21-шу добу експерименту, а в контрольній групі серії гострих гнійних ран на 14-ту добу залишалася лише *E. coli* ( $p < 0,05$ ).

Патогістологічне дослідження вказувало на більш швидкі ранозагоюючі процеси в підгрупах НЧС/УЗ як при лікуванні гострих гнійних

ран, так і ран, що тривало не загоюються. У підгрупах НЧС/УЗ, в порівнянні з групами контролю, підгрупами НЧС та УЗ, відбувалося швидше очищення ран від гнійно-некротичних тканин, зменшення лейкоцитарної та лімфогістіоцитарної інфільтрації, дозрівання грануляційної тканини та швидша поява нового епітеліального шару.

При порівнянні морфометричних показників у серії гострих гнійних ран, починаючи з 3-ої доби спостерігалася достовірна різниця між підгрупами НЧС, УЗ, НЧС/УЗ та контролем ( $p < 0,05$ ). Показник ВПГТ у підгрупі НЧС/УЗ достовірно відрізнявся від аналогічних показників у підгрупах НЧС та УЗ на 7-му та 14-ту добу експерименту ( $p < 0,05$ ).

У серії гнійних ран, що тривало не загоюються, ВПСД була достовірно меншою в підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ порівняно з контролем починаючи з 3-ої доби ( $p < 0,05$ ), тоді як зменшення ВПСН та збільшення ВПГТ в підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ було помітне на 7-му – 14-ту добу експерименту ( $p < 0,05$ ). У підгрупі НЧС/УЗ показники ВПГТ (починаючи з 7-ої доби) та ВПСН (з 14-ої доби) відрізнялися від підгруп з монотерапією НЧС та УЗ.

Результати цитологічного дослідження вказували на швидшу зміну типів цитограм від некротичних до регенеративних у підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ в обох серіях, порівняно з контролем, що вказує на більш інтенсивні процеси ранозагоєння. Наприклад, у серії гострих гнійних ран у підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ вже спостерігались запально-регенеративні типи цитограм, тоді як в групі із застосуванням Хлоргексидину – були ще відсутні. На сьому добу лише в підгрупі НЧС/УЗ спостерігались регенеративно-запальні типи цитограм (10,54 %). Аналогічна картина спостерігалася в серії гнійних ран, що тривало не загоюються: на 7-му добу вже спостерігались запальні типи цитограм в підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ, на 14-ту – регенеративно-запальні, тоді як у контрольній групі аналогічні типи цитограм ще були відсутні. На 7-му добу лише в підгрупі НЧС/УЗ були



наявні запально-регенеративні типи цитограм (19,74 %), та лише в підгрупі НЧС/УЗ на 14-ту добу були регенеративні типи цитограм (21,17 %).

Починаючи з третьої доби в підгрупах НЧС, УЗ та НЧС/УЗ в серії гострих гнійних ран спостерігалось швидше зменшення загальної кількості лейкоцитів у полі зору та відсотку їх деструкції ( $p < 0,05$ ), швидше збільшення макрофагів, полібластів, фібробластів та ендотеліоцитів, порівняно з групою контролю ( $p < 0,05$ ). В серії гнійних ран, що тривало не загоюються, аналогічні зміни були помітні лише з 7-ої доби спостереження ( $p < 0,05$ ). Перехід від незавершеного фагоцитозу в завершений проходив динамічніше в підгрупах НЧС/УЗ.

РДІ в серії гострих гнійних ран у всіх групах становив  $> 1$ , починаючи з 3-ої доби експерименту, а в серії гнійних ран, що тривало не загоюються, РДІ в експериментальній групі змінився на  $> 1$  на 14-ту добу спостереження, тоді як в контрольній групі – на 21-шу добу. Більш пізній перехід РДІ з  $< 1$  на  $> 1$  у серії гнійних ран, що тривало не загоюються, вказує на повільніші регенеративні процеси.

Поєднане використання НЧС та УЗ значно покращило загоєння експериментальних гнійних ран за рахунок скорочення першої фази ранового процесу та швидшого переходу в репаративну фазу. Рани інтенсивно очищувалися від мікрофлори, яка разом з рановим детритом швидко фагоцитувалася. Швидше зменшувались запальні прояви та ознаки порушення мікроциркуляції, а рановий дефект швидше заповнювався грануляційною тканиною.

У контрольних групах, на відміну від підгруп НЧС/УЗ, для ранового процесу було характерне повільне очищення від бактеріальних збудників та некротичних тканин, повільний перехід від незавершеного до завершеного фагоцитозу та від некротичних типів цитограм до регенеративних, зниження макрофагальної реакції, пригнічення фібробластичної проліферації та неангіогенезу, що відображалось в уповільненому переході запальної фази ранового процесу в проліферативну. Повільне очищення ран від мікрофлори

та ранового детриту було особливо помітне в серії гнійних ран, що тривало не загоюються.

В. А. Журба зі співавт. також підтверджують клінічну ефективність НЧС у складі перев'язувального матеріалу [220], а Х. Hui-Qing зі співавт. вказують на скорочення термінів лікування ран на 4-5 діб з використанням НЧС [222].

Аналіз отриманих результатів виявив, що провідним фактором ефективності лікування НЧС у поєднанні з УЗ є бактерицидна дія НЧС, яка підсилена УЗ кавітацією. Зниження рівня обсіменіння ран і токсичного впливу мікрофлори призводило до зменшення запальних процесів та мікроциркуляторних розладів, сприяло проліферації клітин, синтезу колагену, дозріванню грануляційної тканини та епітелізації ранової поверхні. Підсилення бактерицидного ефекту пов'язане, на нашу думку, із одночасним застосуванням різних механізмів антибактеріальної дії УЗ та НЧС. Під дією УЗ виникає змінний електричний потенціал, який викликає деполаризацію клітинних мембран бактерій та змінює проникність іонів. Підвищена кількість іонів срібла, що вивільняються з НЧС під дією УЗ згубно діє на мікробну клітину. УЗ також зменшує агрегацію НЧС та краще доставляє НЧС у важкодоступні місця гнійної рани.

Функція УЗ полягала не лише в посиленні бактерицидного ефекту, але і в механічному очищенні рани від фібрину, детриту та мікроорганізмів, активізації метаболізму, фагоцитарної активності лейкоцитів та утворенню колагену [159, 161]. Крім того, УЗ сприяє проникненню антибактеріальних препаратів в глибокі шари тканин та дозріванню грануляційної тканини, УЗ покращує лімфо- та кровообіг, стимулює регенеративні процеси в рані [151].

Позитивний вплив УЗ на процес очищення рани пов'язаний із руйнуванням під час кавітації клітинних елементів і виділенням лізосомальних ензимів, хемотаксичних факторів, бактерицидних катіонних білків та біогенних стимуляторів. Це призводить до фрагментації та відшарування некротичного шару, посилення протеолітичної активності

ексудату, збільшення числа фагоцитарних нейтрофілів, стимулювання фагоцитарної активності лейкоцитів крові та їх антибактеріальної дії, що прискорює процес репаративної регенерації [121].

Свій внесок в прискорене загоєння рани роблять протизапальні і ранозагоювальні властивості НЧС за рахунок зниження рівнів прозапальних цитокінів (фактор некрозу пухлин  $\alpha$  і інтерлейкін-8) та збільшення експресії протизапальних медіаторів – інтерлейкіну-4, епідермального фактору росту та кератиноцитного фактору росту 1 і 2 [8].

При дослідженні крові щурів у підгрупах із застосуванням НЧС та НЧС/УЗ концентрація срібла не перевищувала показники контрольної групи і була в межах від 0,06 мкг/л до 0,16 мкг/л, що вказує на відсутність резорбтивного ефекту для НЧС за 21-денний період лікування. При використанні НЧС у якості монотерапії та у поєднанні з низькочастотним УЗ, на поперечних зрізах гнійних ран залишків срібла не було виявлено. Срібло визначалося переважно на поверхні гнійних ран, відсоток якого збільшувався в більш пізні терміни експерименту. Накопичення срібла на поверхні гнійних ран пов'язане з щоденною обробкою ран НЧС та накладанням срібловмісної пов'язки і вказує на кумулятивну здатність НЧС в місці застосування впродовж періоду лікування.

Отже, отримані дані експериментального дослідження вказують, що застосування НЧС у поєднанні з низькочастотним УЗ має більш ефективну ранозагоюючу дію як при лікуванні гострих гнійних ран, так і ран, що тривало не загоюються. Поєднане застосування НЧС та УЗ дозволяє прискорити регресію місцевих ознак запалення, досягти швидкої та повноцінної елімінації мікрофлори із патологічного вогнища, скоротити терміни очищення ран від гнійних мас, пришвидшити репаративні процеси, скоротити терміни повного закриття ранового дефекту.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведені теоретичне узагальнення та нові результати, що вирішують наукове завдання, суть якого полягає у розробці нового способу лікування гнійної хірургічної інфекції з поєднаним застосуванням НЧС та низькочастотного УЗ та вивченні морфофункціональних особливостей перебігу гнійного ранового процесу.

1. Синтезовані поліольним методом НЧС розміром 25-60 нм мають антимікробну активність відносно збудників гнійної хірургічної інфекції (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* та *C. albicans*) *in-vitro* у концентраціях від 12,5 мкг/мл до 50,0 мкг/мл. Поєднане застосування НЧС та низькочастотного УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) дозволяє істотно підсилити антимікробну активність НЧС (мінімально інгібуючі та бактерицидні концентрації зменшуються до 0,012 – 0,78 мкг/мл та 0,05 – 1,6 мкг/мл, відповідно), скоротити швидкість елімінації збудників та покращити антибіоплівкову активність НЧС.

2. На культурі клітин дермальних фібробластів не спостерігається цитотоксичної дії НЧС через 72 год при концентраціях нижче 3,2 мкг/мл, та через 24 год – при концентраціях НЧС нижче 6,4 мкг/мл. Ефективна антимікробна концентрація НЧС у поєднанні з низькочастотним УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) не перевищує допустимих цитотоксичних значень, що дозволяє застосовувати НЧС при лікуванні гнійної хірургічної інфекції у концентраціях, які не перевищують 1,6 мкг/мл.

3. Поєднане застосування НЧС та низькочастотного УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) при лікуванні експериментальних гострих гнійних ран дозволяє прискорити загоєння за рахунок швидшого очищення ран від гнійно-некротичних тканин, кращої елімінації бактеріальної мікрофлори, швидших термінів появи грануляцій та епітелізації, порівняно з традиційним лікуванням 0,05 % розчином Хлоргексидину та монотерапією НЧС і низькочастотним УЗ. Повне закриття ранових дефектів гострих гнійних ран

настало на 11,3 днів швидше порівняно з лікуванням 0,05 % розчином Хлоргексидину ( $p \leq 0,0001$ ); на 5,1 діб швидше порівняно з монотерапією НЧС ( $p < 0,05$ ); та на 2,2 доби швидше в порівнянні з монотерапією низькочастотним УЗ ( $p < 0,05$ ).

4. При лікуванні експериментальних гнійних ран, що тривало не загоюються, з поєднаним використанням НЧС та низькочастотного УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) у порівнянні з традиційним лікуванням 0,05 % розчином Хлоргексидину, монотерапією НЧС та низькочастотним УЗ спостерігалось швидше очищення ран від гнійно-некротичних тканин, краща елімінація бактеріальної мікрофлори, швидші терміни появи грануляцій та епітелізації, і, як наслідок, швидше загоєння ран. Повна епітелізація гнійних ран, що тривало не загоюються, при поєднаному використанні НЧС та низькочастотного УЗ наступила на 6,9 днів швидше порівняно з лікуванням розчином Хлоргексидину ( $p < 0,05$ ); на 2,9 доби швидше порівняно з монотерапією НЧС ( $p < 0,05$ ); та на 4,2 доби швидше в порівнянні з монотерапією низькочастотним УЗ ( $p < 0,05$ ).

5. Місцеве використання НЧС як у якості монотерапії, так і у поєднанні з низькочастотним УЗ ( $26,5 \pm 1,98$  кГц) при лікуванні експериментальних гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються, не здійснює системної резорбтивної дії, не викликає підвищення вмісту срібла в крові та в прилеглих до рани тканинах, однак має тенденцію до накопичення НЧС безпосередньо на поверхні гнійних ран.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Результати, одержані у процесі дослідження особливостей перебігу гнійного ранового процесу при поєднаному застосуванні НЧС та низькочастотного УЗ можуть бути використані для подальшого дослідження з метою впровадження НЧС у практику закладів охорони здоров'я як засобу медичного призначення.

2. Результати дослідження антимікробних властивостей НЧС та низькочастотного УЗ *in-vitro* та на прикладі експериментальних гнійних ран можна використовувати під час вивчення відповідних розділів навчального матеріалу на кафедрах мікробіології та хірургії з подальшим поширенням знань у практичну діяльність лікарів.

3. У зв'язку з необхідністю комплексного підходу до лікування гнійних захворювань м'яких тканин пропонується подальше вивчення перебігу гнійного ранового процесу при поєднаному застосуванні НЧС, УЗ та системної антибіотикотерапії.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Kolasiński W. Surgical site infections - review of current knowledge, methods of prevention. *Pol Przegl Chir.* 2018 Nov 6;91(4):41-47.
2. Mueck KM, Kao LS. Patients at High-Risk for Surgical Site Infection. *Surg Infect (Larchmt).* 2017 May/Jun;18(4):440-446.
3. Andersson DI, Hughes D. Selection and Transmission of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Microbiol Spectr.* 2017 Jul;5(4).
4. Kotronis G, Vas PRJ. Ultrasound Devices to Treat Chronic Wounds: The Current Level of Evidence. *Int J Low Extrem Wounds.* 2020 Dec;19(4):341-349.
5. Dong Y, Xu Y, Li P, Wang C, Cao Y, Yu J. Antibiofilm effect of ultrasound combined with microbubbles against *Staphylococcus epidermidis* biofilm. *Int J Med Microbiol.* 2017 Sep;307(6):321-328.
6. Liu Q, Jiang J, Tang L, Chen M. The effect of low frequency and low intensity ultrasound combined with microbubbles on the sonoporation efficiency of MDA-MB-231 cells. *Ann Transl Med.* 2020;8(6):298.
7. Tang S, Zheng J. Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. *Adv Healthc Mater.* 2018 Jul;7(13):e1701503.
8. Nadworny PL, Wang J, Tredget EE, Burrell RE. Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver-derived solutions in porcine contact dermatitis. *J Inflamm (Lond).* 2010 Feb 19;7:13.
9. Badia JM, Casey AL, Petrosillo N, Hudson PM, Mitchell SA, Crosby C. Impact of surgical site infection on healthcare costs and patient outcomes: a systematic review in six European countries. *J Hosp Infect.* 2017 May;96(1):1-15.
10. Alkaaki A, Al-Radi OO, Khoja A, Alnawawi A, Alnawawi A, Maghrabi A, et al. Surgical site infection following abdominal surgery: a prospective cohort study. *Can J Surg.* 2019 Apr 1;62(2):111-117.

11. Aga E, Keinan-Boker L, Eithan A, Mais T, Rabinovich A, Nassar F. Surgical site infections after abdominal surgery: incidence and risk factors. A prospective cohort study. *Infect Dis (Lond)*. 2015;47(11):761-7.
12. Global Guidelines for the Prevention of Surgical Site Infection [Internet]. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2018 [cited 2021 Nov 6]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/277399>
13. Healthcare-associated infections: surgical site infections: Annual Epidemiological Report for 2017 [Internet]. Stockholm: ECDC; 2019 Oct [cited 2021 Nov 12]. Available from: [https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER\\_for\\_2017-SSI.pdf](https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2017-SSI.pdf)
14. Haddad S, Núñez-Pereira S, Pigrau C, Rodríguez-Pardo D, Vila-Casademunt A, Alanay A, et al.; European Spine Study Group. The impact of deep surgical site infection on surgical outcomes after posterior adult spinal deformity surgery: a matched control study. *Eur Spine J*. 2018 Oct;27(10):2518-2528.
15. Schweizer ML, Cullen JJ, Perencevich EN, Vaughan Sarrazin MS. Costs associated with surgical site infections in Veterans Affairs Hospitals. *JAMA Surg*. 2014;149:575–581.
16. Jenks PJ, Laurent M, McQuarry S, Watkins R. Clinical and economic burden of surgical site infection (SSI) and predicted financial consequences of elimination of SSI from an English hospital. *J Hosp Infect*. 2014;86:24–33.
17. Badia JM, Casey AL, Petrosillo N, Hudson PM, Mitchell SA, Crosby C. Impact of surgical site infection on healthcare costs and patient outcomes: a systematic review in six European countries. *J Hosp Infect*. 2017 May;96(1):1-15.
18. Shiroky J, Lillie E, Muaddi H, Sevigny M, Choi WJ, Karanicolas PJ. The impact of negative pressure wound therapy for closed surgical incisions on surgical site infection: A systematic review and meta-analysis. *Surgery*. 2020 Jun;167(6):1001-1009.



19. Mofazzal Jahromi MA, Sahandi Zangabad P, Moosavi Basri SM, Sahandi Zangabad K, Ghamarypour A, Aref AR, et al. Nanomedicine and advanced technologies for burns: Preventing infection and facilitating wound healing. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018 Jan 1;123:33-64.
20. Deepachitra R, Lakshmi RP, Sivaranjani K, Chandra JH, Sastry TP. Nanoparticles embedded biomaterials in wound treatment: A review. *J. Chem. Pharm. Sci.* 2015;8:324–329.
21. Akers KS, Wenke JC, Murray CK, Biofilms and Wound Infection Research in the US Military. In *Targeting Biofilms in Translational Research, Device Development, and Industrial Sectors*; Williams, D., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2019; pp. 55–69.
22. O’Neill J, Antimicrobial resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations. In *Wellcome Collection*; UK Government: London, UK, 2014.
23. Negut I, Grumezescu V, Grumezescu AM. Treatment Strategies for Infected Wounds. *Molecules.* 2018 Sep 18;23(9):2392.
24. Ahmed K, Bashar K, Connelly TT, Fahey T, Walsh SR. Reducing Surgical Site Infections in Abdominal Surgery: Are Ring Retractors Effective? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Surg Infect (Larchmt).* 2016 Apr;17(2):138-51.
25. Gómez-Romero FJ, Fernández-Prada M, Navarro-Gracia JF. Prevention of Surgical Site Infection: Analysis and Narrative Review of Clinical Practice Guidelines. *Cir Esp.* 2017 Nov;95(9):490-502.
26. Badia JM, Rubio Pérez I, Manuel A, Membrilla E, Ruiz-Tovar J, Muñoz-Casares C, et al. Surgical site infection prevention measures in General Surgery: Position statement by the Surgical Infections Division of the Spanish Association of Surgery. *Cir Esp (Engl Ed).* 2020 Apr;98(4):187-203.
27. Sainz de la Cuesta R, Mohedano R, Sainz de la Cuesta S, Guzman B, Serrera A, Paulos S, Rubio M. Intraoperative subcutaneous culture as a predictor of

- surgical site infection in open gynecological surgery. *PLoS One*. 2021 Jan 12;16(1):e0244551.
28. Alverdy JC. The wound environment, microbial virulence and postoperative infection: Practical lessons for the surgeon. *Cir Esp (Engl Ed)*. 2018 Dec;96(10):612-619.
  29. Mihai MM, Holban AM, Giurcăneanu C, Popa LG, Buzea M, Filipov M, et al. Identification and phenotypic characterization of the most frequent bacterial etiologies in chronic skin ulcers. *Rom J Morphol Embryol*. 2014;55(4):1401-8.
  30. Mihai MM, Holban AM, Giurcaneanu C, Popa LG, Oanea RM, Lazar V, et al. Microbial biofilms: impact on the pathogenesis of periodontitis, cystic fibrosis, chronic wounds and medical device-related infections. *Curr Top Med Chem*. 2015;15(16):1552-76.
  31. Bowler PG. Antibiotic resistance and biofilm tolerance: a combined threat in the treatment of chronic infections. *J Wound Care*. 2018 May 2;27(5):273-277.
  32. Malone M, Johani K, Jensen SO, Gosbell IB, Dickson HG, Hu H, et al. Next Generation DNA Sequencing of Tissues from Infected Diabetic Foot Ulcers. *EBioMedicine*. 2017 Jul;21:142-149.
  33. Mihai MM, Preda M, Lungu I, Gestal MC, Popa MI, Holban AM. Nanocoatings for Chronic Wound Repair-Modulation of Microbial Colonization and Biofilm Formation. *Int J Mol Sci*. 2018 Apr 12;19(4):1179.
  34. Mihai MM, Dima MB, Dima B, Holban AM. Nanomaterials for Wound Healing and Infection Control. *Materials (Basel)*. 2019 Jul 6;12(13):2176.
  35. Dessein R, Bauduin M, Grandjean T, Le Guern R, Figeac M, Beury D, et al. Antibiotic-related gut dysbiosis induces lung immunodepression and worsens lung infection in mice. *Crit Care*. 2020 Oct 15;24(1):611.
  36. Leaper D, Wilson P, Assadian O, Edmiston C, Kiernan M, Miller A, et al. The role of antimicrobial sutures in preventing surgical site infection. *Ann R Coll Surg Engl*. 2017 Jul;99(6):439-443.

37. Waltz PK, Zuckerbraun BS. Surgical Site Infections and Associated Operative Characteristics. *Surg Infect (Larchmt)*. 2017 May/Jun;18(4):447-450. doi: 10.1089/sur.2017.062.
38. Leaper D, Ousey K. Evidence update on prevention of surgical site infection. *Curr Opin Infect Dis*. 2015 Apr;28(2):158-63.
39. Tubre DJ, Schroeder AD, Estes J, Eisenga J, Fitzgibbons RJ Jr. Surgical site infection: the "Achilles Heel" of all types of abdominal wall hernia reconstruction. *Hernia*. 2018 Dec;22(6):1003-1013.
40. Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol*. 2019 Oct;51:72-80. doi: 10.1016/j.mib.2019.10.008. Epub 2019 Nov 13.
41. Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 Mar 17;10:107. doi: 10.3389/fcimb.2020.00107.
42. Carvalho RLR, Campos CC, Franco LMC, Rocha AM, Ercole FF. Incidence and risk factors for surgical site infection in general surgeries. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2017 Dec 4;25:e2848.
43. Laviano E, Sanchez M, González-Nicolás MT, Palacian MP, López J, Gilaberte Y, et al. Surgical site infection in hepatobiliary surgery patients and its relationship with serum vitamin D concentration. *Cir Esp (Engl Ed)*. 2020 Oct;98(8):456-464.
44. Boev C, Kiss E. Hospital-Acquired Infections: Current Trends and Prevention. *Crit Care Nurs Clin North Am*. 2017 Mar;29(1):51-65.
45. Kandi V, Vadakedath S. Implant-Associated Infections: A Review of the Safety of Cardiac Implants. *Cureus*. 2020 Dec 25;12(12):e12267. doi: 10.7759/cureus.12267.
46. Ferreiro L, Porcel JM, Bielsa S, Toubes ME, Álvarez-Dobaño JM, Valdés L. Management of pleural infections. *Expert Rev Respir Med*. 2018 Jun;12(6):521-535.

47. Zhang XF, Chen J, Wang PG, Luo SM, Liu NX, Li XM, et al. [Surgical site infection after abdominal surgery in China: a multicenter cross-sectional study] *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* [Internet]. 2020 Nov 25 [cited 2021 Feb 19];23(11):1036-42. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/348412513\\_Surgical\\_site\\_infection\\_after\\_abdominal\\_surgery\\_in\\_China\\_a\\_multicenter\\_cross-sectional\\_study](https://www.researchgate.net/publication/348412513_Surgical_site_infection_after_abdominal_surgery_in_China_a_multicenter_cross-sectional_study)  
DOI: 10.3760/cma.j.cn.441530-20200810-00470
48. Ban KA, Minei JP, Laronga C, Harbrecht BG, Jensen EH, Fry DE, et al. American College of Surgeons and Surgical Infection Society: Surgical Site Infection Guidelines, 2016 Update. *J Am Coll Surg*. 2017 Jan;224(1):59-74.
49. de Leon J, Bohn GA, DiDomenico L, Fearmonti R, Gottlieb HD, Lincoln K, et al. Wound Care Centers: Critical Thinking and Treatment Strategies for Wounds. *Wounds*. 2016 Oct;28(10):S1-S23.
50. Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. *Eur Surg Res*. 2017;58(1-2):81-94.
51. Bystritsky R, Chambers H. Cellulitis and Soft Tissue Infections. *Ann Intern Med*. 2018 Feb 6;168(3):ITC17-ITC32.
52. Javed AA, Teinor J, Wright M, Ding D, Burkhart RA, Hundt J, et al. Negative Pressure Wound Therapy for Surgical-site Infections: A Randomized Trial. *Ann Surg*. 2019 Jun;269(6):1034-1040.
53. Bonne SL, Kadri SS. Evaluation and Management of Necrotizing Soft Tissue Infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2017 Sep;31(3):497-511.
54. Shiroky J, Lillie E, Muaddi H, Sevigny M, Choi WJ, Karanicolas PJ. The impact of negative pressure wound therapy for closed surgical incisions on surgical site infection: A systematic review and meta-analysis. *Surgery*. 2020 Jun;167(6):1001-1009.
55. Baiu I, Staudenmayer K. Necrotizing Soft Tissue Infections. *JAMA*. 2019 May 7;321(17):1738.

56. Shah D, Mital K. The Role of Trypsin:Chymotrypsin in Tissue Repair. *Adv Ther.* 2018 Jan;35(1):31-42.
57. Chandanwale A, Langade D, Sonawane D, Gavai P. A Randomized, Clinical Trial to Evaluate Efficacy and Tolerability of Trypsin:Chymotrypsin as Compared to Serratiopeptidase and Trypsin:Bromelain:Rutoside in Wound Management. *Adv Ther.* 2017 Jan;34(1):180-198.
58. Wiegand C, Bittenger K, Galiano RD, Driver VR, Gibbons GW. Does noncontact low-frequency ultrasound therapy contribute to wound healing at the molecular level? *Wound Repair Regen.* 2017 Sep;25(5):871-882.
59. Rastogi A, Bhansali A, Ramachandran S. Efficacy and Safety of Low-Frequency, Noncontact Airborne Ultrasound Therapy (Glybetac) For Neuropathic Diabetic Foot Ulcers: A Randomized, Double-Blind, Sham-Control Study. *Int J Low Extrem Wounds.* 2019 Mar;18(1):81-88.
60. Messa CA 4th, Chatman BC, Rhemtulla IA, Broach RB, Mauch JT, D'Angelantonio AM 3rd, et al. Ultrasonic debridement management of lower extremity wounds: retrospective analysis of clinical outcomes and cost. *J Wound Care [Internet].* 2019 May 1 [cited 2021 Feb 19];28(5):30-40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31067172/> DOI: 10.12968/jowc.2019.28.Sup5.S30
61. Tantawy SA, Abdelbasset WK, Kamel DM, Alrawaili SM. A randomized controlled trial comparing helium-neon laser therapy and infrared laser therapy in patients with diabetic foot ulcer. *Lasers Med Sci.* 2018 Dec;33(9):1901-1906.
62. Micheli L, Cialdai F, Pacini A, Branca JJV, Morbidelli L, Ciccone V, et al. Effect of NIR laser therapy by MLS-MiS source against neuropathic pain in rats: in vivo and ex vivo analysis. *Sci Rep.* 2019 Jun 26;9(1):9297.
63. Zakharov VV. Vykorystannia endovaskuliarnoho oprominiuvannia krovi heliï-neonovym lazerom v kompleksniï profilaktytsi sepsysu u retsypientiv nyrkovykh alotransplantativ [The use of endovascular blood irradiation by

- helium-neon laser for the integral prophylaxis of sepsis in kidney allotransplant recipients]. *Klin Khir.* 1997;(11-12):96.
64. Abdul-Aziz B, Lorencatto F, Stanworth SJ, Francis JJ. Patients' and health care professionals' perceptions of blood transfusion: a systematic review. *Transfusion.* 2018 Feb;58(2):446-455.
  65. Lin S, Xie J, Yao X, Dai Z, Wu W. The Use of Cryotherapy for the Prevention of Wound Complications in the Treatment of Calcaneal Fractures. *J Foot Ankle Surg.* 2018 May-Jun;57(3):436-439.
  66. Burnham JP, Kollef MH. Treatment of severe skin and soft tissue infections: a review. *Curr Opin Infect Dis.* 2018 Apr;31(2):113-119.
  67. Korolev YN, Mihajlik LV, Nikulina LA, Geniatulina MS. Osobennosti razvitiia metabolicheskikh i regenerativnykh protsessov pri deistvii nizkointensivnykh élektromagnitnykh izlucheniï v usloviakh radiatsionnogo oblucheniia (éksperimental'noe issledovanie) [The specific features of the development of metabolic and regenerative processes under the action of low-intensity electromagnetic radiation in radiation exposure conditions (an experimental study)]. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult [Internet].* 2017 [cited 2021 Feb 19];94(4):54-8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29119962/> DOI: 10.17116/kurort201794454-58
  68. Patry J, Blanchette V. Enzymatic debridement with collagenase in wounds and ulcers: a systematic review and meta-analysis. *Int Wound J.* 2017 Dec;14(6):1055-1065.
  69. Borges GÁ, Elias ST, da Silva SM, Magalhães PO, Macedo SB, Ribeiro AP, et al. In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. *J Craniomaxillofac Surg.* 2017 Mar;45(3):364-370.
  70. Ouimet CM, D'amico CI, Kennedy RT. Advances in capillary electrophoresis and the implications for drug discovery. *Expert Opin Drug Discov.* 2017 Feb;12(2):213-224.

71. Anheuser P, Mühlstädt S, Kranz J, Schneidewind L, Steffens J, Fornara P. Significance of Hyperbaric Oxygenation in the Treatment of Fournier's Gangrene: A Comparative Study. *Urol Int*. 2018;101(4):467-471.
72. Tejada S, Batle JM, Ferrer MD, Busquets-Cortés C, Monserrat-Mesquida M, Nabavi SM, et al. Therapeutic Effects of Hyperbaric Oxygen in the Process of Wound Healing. *Curr Pharm Des*. 2019;25(15):1682-1693.
73. Ahmad M, Khan AU. Global economic impact of antibiotic resistance: A review. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019 Dec;19:313-316.
74. Hao WZ, Li XJ, Zhang PW, Chen JX. A review of antibiotics, depression, and the gut microbiome. *Psychiatry Res*. 2020 Feb;284:112691.
75. Fröhlich EE, Farzi A, Mayerhofer R, Reichmann F, Jačan A, Wagner B, et al. Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: Analysis of gut microbiota-brain communication. *Brain Behav Immun*. 2016 Aug;56:140-55.
76. Blumenthal KG, Peter JG, Trubiano JA, Phillips EJ. Antibiotic allergy. *Lancet*. 2019 Jan 12;393(10167):183-198.
77. Ploegmakers IB, Olde Damink SW, Breukink SO. Alternatives to antibiotics for prevention of surgical infection. *Br J Surg*. 2017 Jan;104(2):e24-e33. doi: 10.1002/bjs.10426.
78. Brocke T, Barr J. The History of Wound Healing. *Surg Clin North Am*. 2020 Aug;100(4):787-806.
79. Caldwell MD. Bacteria and Antibiotics in Wound Healing. *Surg Clin North Am*. 2020 Aug;100(4):757-776.
80. Johnson-Jahangir H, Agrawal N. Perioperative Antibiotic Use in Cutaneous Surgery. *Dermatol Clin*. 2019 Jul;37(3):329-340.
81. Punjataewakupt A, Napavichayanun S, Aramwit P. The downside of antimicrobial agents for wound healing. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Jan;38(1):39-54.
82. Yılmaz Ç, Özcengiz G. Antibiotics: Pharmacokinetics, toxicity, resistance and multidrug efflux pumps. *Biochem Pharmacol*. 2017 Jun 1;133:43-62.

83. Gao W, Chen Y, Zhang Y, Zhang Q, Zhang L. Nanoparticle-based local antimicrobial drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018 Mar 1;127:46-57.
84. Lipsky BA, Hoey C. Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds. *Clin Infect Dis.* 2009 Nov 15;49(10):1541-9.
85. Kravanja G, Primožič M, Knez Ž, Leitgeb M. Chitosan-based (Nano)materials for Novel Biomedical Applications. *Molecules.* 2019 May 21;24(10):1960.
86. Seyyed Tabaei SJ, Rahimi M, Akbaribazm M, Ziai SA, Sadri M, Shahrokhi SR, et al. Chitosan-based nano-scaffolds as antileishmanial wound dressing in BALB/c mice treatment: Characterization and design of tissue regeneration. *Iran J Basic Med Sci.* 2020 Jun;23(6):788-799.
87. Shanmugasundaram T, Radhakrishnan M, Gopikrishnan V, Kadirvelu K, Balagurunathan R. In vitro antimicrobial and in vivo wound healing effect of actinobacterially synthesised nanoparticles of silver, gold and their alloy. *RSC Adv.* 2017;7:51729–51743.
88. Stoica AE, Chircov C, Grumezescu AM. Nanomaterials for Wound Dressings: An Up-to-Date Overview. *Molecules.* 2020 Jun 10;25(11):2699.
89. Allen TM, Cullis PR. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2013 Jan;65(1):36-48.
90. Bespalova Y, Kwon D, Vasanthan N. Surface modification and antimicrobial properties of cellulose nanocrystals. *J. Appl. Polym. Sci.* 2017;134(18):44789.
91. Gehring J, Schleheck D, Trepka B, Polarz S. Mesoporous organosilica nanoparticles containing superacid and click functionalities leading to cooperativity in biocidal coatings. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2015 Jan 14;7(1):1021-9.
92. Mioton LM, Jordan SW, Hanwright PJ, Bilimoria KY, Kim JY. The relationship between preoperative wound classification and postoperative infection: A multi-institutional analysis of 15,289 patients. *Arch Plast Surg.* 2013;40:522–529.



93. Seisenbaeva GA, Fromell K, Vinogradov VV, Terekhov AN, Pakhomov AV, Nilsson B, et al. Dispersion of TiO<sub>2</sub> nanoparticles improves burn wound healing and tissue regeneration through specific interaction with blood serum proteins. *Sci Rep.* 2017 Nov 13;7(1):15448.
94. Wang W, Lu KJ, Yu CH, Huang QL, Du YZ. Nano-drug delivery systems in wound treatment and skin regeneration. *J Nanobiotechnology.* 2019 Jul 10;17(1):82.
95. Lee NY, Ko WC, Hsueh PR. Nanoparticles in the Treatment of Infections Caused by Multidrug-Resistant Organisms. *Front Pharmacol.* 2019 Oct 4;10:1153.
96. Niño-Martínez N, Salas Orozco MF, Martínez-Castañón GA, Torres Méndez F, Ruiz F. Molecular Mechanisms of Bacterial Resistance to Metal and Metal Oxide Nanoparticles. *Int J Mol Sci.* 2019 Jun 8;20(11):2808.
97. Sánchez-López E, Gomes D, Esteruelas G, Bonilla L, Lopez-Machado AL, Galindo R, et al. Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents: An Overview. *Nanomaterials (Basel).* 2020 Feb 9;10(2):292.
98. Arora N, Thangavelu K, Karanikolos GN. Bimetallic Nanoparticles for Antimicrobial Applications. *Front Chem.* 2020 May 28;8:412.
99. Shkodenko L, Kassirov I, Koshel E. Metal Oxide Nanoparticles Against Bacterial Biofilms: Perspectives and Limitations. *Microorganisms.* 2020 Oct 7;8(10):1545. doi: 10.3390/microorganisms8101545.
100. Souto EB, Ribeiro AF, Ferreira MI, Teixeira MC, Shimojo AAM, Soriano JL, et al. New Nanotechnologies for the Treatment and Repair of Skin Burns Infections. *Int J Mol Sci.* 2020 Jan 8;21(2):393.
101. Bigliardi PL, Alsagoff SAL, El-Kafrawi HY, Pyon JK, Wa CTC, Villa MA. Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices. *Int J Surg.* 2017 Aug;44:260-268.
102. Leise BS. Topical Wound Medications. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2018 Dec;34(3):485-498.

103. Totoraitis K, Cohen JL, Friedman A. Topical Approaches to Improve Surgical Outcomes and Wound Healing: A Review of Efficacy and Safety. *J Drugs Dermatol*. 2017 Mar 1;16(3):209-212.
104. Kramer A, Dissemond J, Kim S, Willy C, Mayer D, Papke R, et al. Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. *Skin Pharmacol Physiol*. 2018;31(1):28-58.
105. Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Chlorhexidine--pharmaco-biological activity and application. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015 Apr;19(7):1321-6.
106. Main RC. Should chlorhexidine gluconate be used in wound cleansing? *J Wound Care*. 2008 Mar;17(3):112-4. doi: 10.12968/jowc.2008.17.3.28668.
107. Chornopyshchuk RM. Study of the antimicrobial activity of the combination of levomekol and liastenum using in vitro experiments. Reports of Vinnytsia National Medical University. 2015;19(1):11-14.
108. Chornopyshchuk RM, Zheliba MD, Burkovskyi MI, Urvan OG. Morphological grounding for advisability of locally applied combination of liastenum and levomekol during comprehensive treatment of purulent wounds. Reports of Vinnytsia National Medical University. 2015;19(2)305-311.
109. Gupta V, Datta P. Next-generation strategy for treating drug resistant bacteria: Antibiotic hybrids. *Indian J Med Res*. 2019 Feb;149(2):97-106.
110. Shah F, Bell IM. Cutaneous Adverse Events Caused by Sulfonamide-Containing Drugs: Reality or Perception? *J Med Chem*. 2020 Jul 23;63(14):7447-7457.
111. Rajakumari R, Volova T, Oluwafemi OS, Rajeshkumar S, Thomas S, Kalarikkal N. Nano formulated proanthocyanidins as an effective wound healing component. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020 Jan;106:110056.
112. Alipov VV, Avanesyan GA, Musaelyan AG, Alipov AI, Mustafaeva DR. Sovremennye problemy modelirovaniya i lecheniya abstsessov myagkikh

- tkanei [Modern problems of modelling and treatment of soft tissues abscesses]. *Khirurgiia (Mosk)*. 2020;(5):81-86.
113. Belik BM, Chumburidze IP, Shtilman MY, Yavruyan OA, Savchenko YP. Kompleksnoe lechenie bol'nykh s gnoino-nekroticheskimi oslozhneniyami pri neiropaticheskoi forme sindroma diabeticheskoi stopy [Complex treatment of patients with pyo-necrotic complications of the neuropathic form of diabetic foot syndrome]. *Khirurgiia (Mosk)* [Internet]. 2020 [cited 2021 Jun 12];(4):81-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32352675/> DOI: 10.17116/hirurgia202004181
  114. Kallis PJ, Friedman AJ. Collagen Powder in Wound Healing. *J Drugs Dermatol*. 2018 Apr 1;17(4):403-408.
  115. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*. 2019 Jan 1;99(1):665-706.
  116. Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. *J Chin Med Assoc*. 2018 Feb;81(2):94-101.
  117. Abu-Sheasha GA, Bedwani RN, Anwar MM, Yassine OG. Cost-effectiveness analysis of three methods of surgical-site infection surveillance: Less is more. *Am J Infect Control*. 2020 Oct;48(10):1220-1224.
  118. Breuing KH, Bayer L, Neuwalder J, Orgill DP. Early experience using low-frequency ultrasound in chronic wounds. *Ann Plast Surg*. 2005;55(2):183-187.
  119. Voigt J, Wendelken M, Driver V, Alvarez OM. Low-frequency ultrasound (20-40 kHz) as an adjunctive therapy for chronic wound healing: a systematic review of the literature and metaanalysis of eight randomized controlled trials. *Int J Low Extrem Wounds*. 2011;10(4):190-199.
  120. Altland OD, Dalecki D, Suchkova VN, Francis CW. Lowintensity ultrasound increases endothelial cell nitric oxide synthase activity and nitric oxide synthesis. *J Thromb Haemost*. 2004;2(4):637-643.
  121. Stanisic MM, Provo BJ, Larson DL, Kloth LC. Wound debridement with 25 kHz ultrasound. *Adv Skin Wound Care*. 2005;18(9): 484-490.

122. Lai J, Pittelkow MR. Physiological effects of ultrasound mist on fibroblasts. *Int J Dermatol*. 2007;46(6):587-593.
123. Suchkova V, Siddiqi FN, Carstensen EL, Dalecki D, Child S, Francis CW. Enhancement of fibrinolysis with 40-kHz ultrasound. *Circulation* 1998;98:1030-5.
124. Yu H, Liu Y, Li L, Guo Y, Xie Y, Cheng Y, et al. Ultrasound-involved emerging strategies for controlling foodborne microbial biofilms. *Trends Food Sci Technol*. 2020;96:91–101.
125. Ojha KS, Burgess CM, Duffy G, Kerry JP, Tiwari BK. Integrated phenotypic-genotypic approach to understand the influence of ultrasound on metabolic response of *Lactobacillus sakei*. *PLoS One*. 2018 Jan 25;13(1):e0191053.
126. Gracewski SM, Miao H, Dalecki D. Ultrasonic excitation of a bubble near a rigid or deformable sphere: implications for ultrasonically induced hemolysis. *J Acoust Soc Am*. 2005 Mar;117(3 Pt 1):1440-7.
127. Miao H, Gracewski SM, Dalecki D. Ultrasonic excitation of a bubble inside a deformable tube: implications for ultrasonically induced hemorrhage. *J Acoust Soc Am*. 2008 Oct;124(4):2374-84.
128. Wang T, Ma W, Jiang Z, Bi L. The penetration effect of HMME-mediated low-frequency and low-intensity ultrasound against the *Staphylococcus aureus* bacterial biofilm. *Eur J Med Res*. 2020 Oct 22;25(1):51.
129. Terzi HA, et al. The effects of active efflux pumps on antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *World J Microbiol Biotechnol*. 2014;30:2681–7.
130. Guo L, He X, Shi W. Intercellular communications in multispecies oral microbial communities. *Front Microbiol*. 2014 Jul 1;5:328.
131. Cai Y, Wang J, Liu X, Wang R, Xia L. A Review of the Combination Therapy of Low Frequency Ultrasound with Antibiotics. *Biomed Res Int*. 2017;2017:2317846.
132. Guo H, Wang Z, Du Q, Li P, Wang Z, Wang A. Stimulated phase-shift acoustic nanodroplets enhance vancomycin efficacy against methicillin-

- resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Int J Nanomedicine*. 2017 Jun 30;12:4679-4690.
133. Seth AK, Nguyen KT, Geringer MR, Hong SJ, Leung KP, Mustoe TA, et al. Noncontact, low-frequency ultrasound as an effective therapy against *Pseudomonas aeruginosa*-infected biofilm wounds. *Wound Repair Regen*. 2013 Mar-Apr;21(2):266-74.
134. LuTheryn G, Glynne-Jones P, Webb JS, Carugo D. Ultrasound-mediated therapies for the treatment of biofilms in chronic wounds: a review of present knowledge. *Microb Biotechnol*. 2020 May;13(3):613-628.
135. Yu H, Chen S, Cao P. Synergistic bactericidal effects and mechanisms of low intensity ultrasound and antibiotics against bacteria: a review. *Ultrasonics Sonochem*. 2012;19:377–82.
136. Fu YY, Zhang L, Yang Y, Liu CW, He YN, Li P, et al. Synergistic antibacterial effect of ultrasound microbubbles combined with chitosan-modified polymyxin B-loaded liposomes on biofilm-producing *Acinetobacter baumannii*. *Int J Nanomedicine*. 2019 Mar 8;14:1805-1815.
137. Wang X, Ip M, Leung AW, Yang Z, Wang P, Zhang B, et al. Sonodynamic action of curcumin on foodborne bacteria *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. *Ultrasonics*. 2015;62:75–9.
138. Xie S, Li G, Hou Y, Yang M, Li F, Li J, et al. A synergistic bactericidal effect of low-frequency and low-intensity ultrasound combined with levofloxacin-loaded PLGA nanoparticles on *M. smegmatis* in macrophages. *J Nanobiotechnology*. 2020 Jul 29;18(1):107.
139. Metcalf DG, Bowler PG. Biofilm delays wound healing: A review of the evidence. *Burns Trauma*. 2013 Jun 18;1(1):5-12.
140. Hughes G, Webber MA. Novel approaches to the treatment of bacterial biofilm infections. *Br J Pharmacol*. 2017;174(14):2237–46.
141. Stedtfeld RD, Stedtfeld TM, Fader KA, Williams MR, Bhaduri P, Quensen J, et al. TCDD influences reservoir of antibiotic resistance genes in murine gut microbiome. *FEMS Microbiol Ecol*. 2017 May 1;93(5):fix058.

142. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*. 2018 Jan 1;9(1):522-554.
143. Granick MS, Paribathan C, Shanmugam M, Ramasubbu N. Direct-Contact Low-Frequency Ultrasound Clearance of Biofilm From Metallic Implant Materials. *Eplasty*. 2017 Mar 29;17:e13.
144. Bigelow TA, Thomas CL, Wu H, Itani KMF. Impact of High-Intensity Ultrasound on Strength of Surgical Mesh When Treating Biofilm Infections. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*. 2019 Jan;66(1):38-44.
145. Tardivo JP, Serrano R, Zimmermann LM, Matos LL, Baptista MS, Pinhal MAS, Atallah ÁN. Is surgical debridement necessary in the diabetic foot treated with photodynamic therapy? *Diabet Foot Ankle*. 2017 Sep 19;8(1):1373552.
146. Campitiello F, Mancone M, Corte AD, Guerniero R, Canonico S. An evaluation of an ultrasonic debridement system in patients with diabetic foot ulcers: a case series. *J Wound Care*. 2018 Apr 2;27(4):222-228.
147. Volpe P, Marcuccio D, Stilo G, Alberti A, Foti G, Volpe A, et al. Efficacy of cord blood platelet gel application for enhancing diabetic foot ulcer healing after lower limb revascularization. *Semin Vasc Surg*. 2017 Dec;30(4):106-112.
148. de Sousa ACT, da Rocha ÍBP, de Carvalho AFM, de Freitas Coelho NPM, Feitosa MCP, Barros EML, et al. Comparative Study Between Low Level Laser and Therapeutic Ultrasound in Second Intention Ulcers Repair in Mice. *J Lasers Med Sci*. 2018 Spring;9(2):134-138.
149. Liao AH, Hung CR, Chen HK, Chiang CP. Ultrasound-Mediated EGF-Coated-Microbubble Cavitation in Dressings for Wound-Healing Applications. *Sci Rep*. 2018 May 29;8(1):8327.
150. Murphy CA, Houghton P, Brandys T, Rose G, Bryant D. The effect of 22.5 kHz low-frequency contact ultrasound debridement (LFCUD) on lower

- extremity wound healing for a vascular surgery population: A randomised controlled trial. *Int Wound J.* 2018 Jun;15(3):460-472.
151. Polat BE, Blankschtein D, Langer R. Low-frequency sonophoresis: application to the transdermal delivery of macromolecules and hydrophilic drugs. *Expert Opin Drug Delivery.* 2010;7(12):1415–32.
152. Oda S, Nitta H, Setoguchi T, Izumi Y, Ishikawa I. Current concepts and advances in manual and power-driven instrumentation. *Periodontol* 2000. 2004;36:45-58.
153. Sassaroli E, Hynynen K. Cavitation threshold of microbubbles in gel tunnels by focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol.* 2007;33:1651–60.
154. Miller D, Dou C. Induction of apoptosis in sonoporation and ultrasonic gene transfer. *Ultrasound Med Biol.* 2009;35:144–54.
155. Chen L, Zheng Q, Chen X, Wang J, Wang L. Low-frequency ultrasound enhances vascular endothelial growth factor expression, thereby promoting the wound healing in diabetic rats. *Exp Ther Med.* 2019 Nov;18(5):4040-4048.
156. Escandon J, Vivas AC, Perez R, Kirsner R, Davis S. A prospective pilot study of ultrasound therapy effectiveness in refractory venous leg ulcers. *Int Wound J.* 2012;9(5):570-578.
157. Samuels JA, Weingarten MS, Margolis DJ, Zubkov L, Sunny Y, Bawiec CR, et al. Low-frequency (<100 kHz), low-intensity (<100 mW/cm<sup>2</sup>) ultrasound to treat venous ulcers: a human study and in vitro experiments. *J Acoust Soc Am.* 2013 Aug;134(2):1541-7.
158. Selkowitz DM, Cameron MH, Mainzer A, Wolfe R. Efficacy of pulsed low-intensity ultrasound in wound healing: a single-case design. *Ostomy Wound Manage.* 2002;48(4):40-44, 46-50.
159. Bessette RW, Cusenz B, Meenaghan MA, Wirth JE. Comparison of ultrasonic wound debridement to whirlpool and Silvadene therapy in infected burn wounds. *Anat Rec* 1982;202:164-70.

160. Nelson KM, Verhage M, Niezgoda JA, Walek D. Ultrasonic assisted wound treatment: a novel technique for wound debridement. Poster abstract presented at: Clinical Symposium on Advances in Skin and Wound Care; October 16-19, 2003; Chicago, IL. Abstract 36.
161. Breuing KH, Bayer L, Neuwalder J, Arch M, Orgill DP. Early experience using low frequency ultrasound in chronic wounds. *Ann Plast Surg* 2005;55:183-7.
162. Bell AL, Cavorsi J. Noncontact ultrasound therapy for adjunctive treatment of nonhealing wounds: retrospective analysis. *Phys Ther.* 2008;88(12):1517-1524.
163. Ennis WJ, Valdes W, Gainer M, Meneses P. Evaluation of clinical effectiveness of MIST ultrasound therapy for the healing of chronic wounds. *Adv Skin Wound Care.* 2006;19(8):437-446.
164. Cole PS, Quisberg J, Melin MM. Adjuvant use of acoustic pressure wound therapy for treatment of chronic wounds: a retrospective analysis. *J Wound Ostomy Continence Nurs.* 2009;36(2): 171-177.
165. Kavros SJ, Miller JL, Hanna SW. Treatment of ischemic wounds with noncontact, low-frequency ultrasound: the Mayo clinic experience, 2004-2006. *Adv Skin Wound Care.* 2007;20(4): 221-226.
166. Ennis WJ, Valdes W, Gainer M, Meneses P. Evaluation of clinical effectiveness of MIST ultrasound therapy for the healing of chronic wounds. *Adv Skin Wound Care.* 2006;19(8):437-446.
167. Driver VR, Yao M, Miller CJ. Noncontact low-frequency ultrasound therapy in the treatment of chronic wounds: a meta-analysis. *Wound Repair Regen.* 2011;19(4):475-480.
168. Michailidis L, Bergin SM, Haines TP, Williams CM. A Systematic Review to Compare the Effect of Low-frequency Ultrasonic Versus Nonsurgical Sharp Debridement on the Healing Rate of Chronic Diabetes-related Foot Ulcers. *Ostomy Wound Manage.* 2018 Sep;64(9):39-46.



169. Butcher G, Pinnuck L. Wound bed preparation: ultrasonic-assisted debridement. *Br J Nurs*. 2013 Mar 28-Apr 10;22(6):S36, S38-43.
170. Савинова ЕП. Бактерицидная и дезинфицирующая активность препаратов кластерного серебра. *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2014;1(11):44–8.
171. Siddiqi KS, Husen A, Rao RAK. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *J Nanobiotechnology*. 2018 Feb 16;16(1):14.
172. Demling RH, DeSanti L. Effects of silver on wound management. *Wounds*. 2001;13 suppl.A(1):4.
173. Lee SH, Jun BH. Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 17;20(4):865.
174. Hembram KC, Kumar R, Kandha L, Parhi PK, Kundu CN, Bindhani BK. Therapeutic prospective of plant-induced silver nanoparticles: application as antimicrobial and anticancer agent. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018;46(sup3):S38-S51.
175. Szczepanowicz K, Stefańska J, Socha RP, Warszyński P. Preparation of silver nanoparticles via chemical reduction and their antimicrobial activity. *Physicochem Probl Miner Process*. 2010;45:85-98.
176. Ayala-Núñez NV, Lara HH, Ixtepan L, Rodríguez C. Silver nanoparticles toxicity and bactericidal effect against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Nanoscale does matter. *Nanobiotechnology*. 2009;5:2-9.
177. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Mar;73(6):1712-20.
178. Deshmukh SP, Patil SM, Mullani SB, Delekar SD. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019 Apr;97:954-965.

179. Dror-Ehre A, Mamane H, Belenkova T, Markovich G, Adin A. Silver nanoparticle-E. coli colloidal interaction in water and effect on E. coli survival. *J Colloid Interface Sci.* 2009 Nov 15;339(2):521-6.
180. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine.* 2007 Mar;3(1):95-101.
181. Егорова ЕМ. Наночастицы металлов в растворах: биохимический синтез, свойства и применение [автореферат]. Москва: МИТХТ им. М.В. Ломоносова; 2011. 53 с.
182. Egorova EM. Biological effects of silver nanoparticles. In: “Silver nanoparticles: Properties, Characterization and Applications”. (Ed. by Audrey E. Welles). Nova Science Publishers. 2010;221-258.
183. Choi O, Deng KK, Kim NJ, Ross L Jr, Surampalli RY, Hu Z. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water Res.* 2008 Jun;42(12):3066-74.
184. Niakan S, Niakan M, Hesaraki S. Comparison of the antibacterial effects of nanosilver with 18 antibiotics on multidrug resistance clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Jundishapur Journal of Microbiology.* 2013;6(5):1-5.
185. Lara HH, Ayala-Nunez NV, del Carmen Ixtepan Turrent L, Rodríguez-Padilla C. Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World J Microbiol Biotechnol.* 2010;26:615–621.
186. Guo J, Qin S, Wei Y, Liu S, Peng H, Li Q, et al. Silver nanoparticles exert concentration-dependent influences on biofilm development and architecture. *Cell Prolif.* 2019 Jul;52(4):e12616.
187. Estevez MB, Raffaelli S, Mitchell SG, Faccio R, Alborés S. Biofilm Eradication Using Biogenic Silver Nanoparticles. *Molecules.* 2020 Apr 26;25(9):2023.
188. Rajeshkumar S, Kannan C, Annadurai G. Synthesis and characterization of antimicrobial silver nanoparticles using marine brown seaweed *Padina tetrastratica*. *Drug Invention Today.* 2012;4(10):511-513.

189. Abdel-Raouf N, Al-Enazi NM, Ibraheem IBM, Alharbi RM, Alkhulaifi MM. Biosynthesis of silver nanoparticles by using of the marine brown alga *Padina pavonia* and their characterization. *Saudi J Biol Sci.* 2019 Sep;26(6):1207-1215.
190. Afreen Rathod V, Ranganath E. Synthesis of monodispersed silver nanoparticles by *Rhizopus Stolonifer* and its antibacterial activity against MDR strains of *Pseudomonas Aeruginosa* from burnt patients. *International journal of environmental sciences.* 2011;1(7):1582-92.
191. Ram Prasad S, Elango K, Daisy Chellakumari S, Dharani S. Preparation, characterization and antiInflammatory activity of chitosan stabilized silver nanoparticles. *Research J. Pharma. Dosage Formsand Tech.* 2013;5(3):161-7.
192. Sadeghi R, Owlia P, Rezvani MB, Taleghani F, Sharif F. An in-vitro comparison between antimicrobial activity of nanosilver and chlorhexidine against *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces viscosus*. *Journal of Islamic Dental Association of Iran (Majallah-I-Dandanpizishki).* 2012;23(481):225-31.
193. Kalan L, Grice EA. Fungi in the Wound Microbiome. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2018;7(7):247-255.
194. Kalan L, Loesche M, Hodkinson BP, Heilmann K, Ruthel G, Gardner SE, et al. Redefining the Chronic-Wound Microbiome: Fungal Communities Are Prevalent, Dynamic, and Associated with Delayed Healing. *mBio.* 2016 Sep 6;7(5):e01058-16.
195. Pulit J, Banach M, Szczygłowska R, Bryk M. Nanosilver against fungi. Silver nanoparticles as an effective biocidal factor. *Acta Biochim Pol.* 2013;60(4):795-8.
196. Gao C, Xu Y, Xu C. In vitro activity of nano-silver against ocular pathogenic fungi. *Life Science Journal.* 2012;9(4):750-753.
197. Xu C, Gao C, Zhang H, Chen J. In vitro activity of nano-silver against pulmonary pathogenic fungi. *Life Science Journal.* 2013;10(1):4040-3.

198. Белоклицкая ГФ, Павленко ЭМ, Руденко АВ. Изучение бактерицидной активности препаратов серебра по отношению к возбудителям воспалительных процессов в тканях пародонта. Современная стоматология. 2014;5:12-6.
199. Naghsh N, Ghiasian M, Soleymani S, Torkan S. Investigation of Eucalyptus and nanosilver as a new nanomixture for growth inhibition of E.coli. International Journal of Molecular and Clinical Microbiology. 2012;2(1):138-140.
200. Zhang XF, Liu ZG, Shen W, Gurunathan S. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. Int J Mol Sci. 2016 Sep 13;17(9):1534.
201. Díaz-Visurraga J, Gutiérrez C, von Plessing C, García A. Metal nanostructures as antibacterial agents. In: Méndez-Vilas A, editor. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Badajoz: Formatex. 2011;3(1):210-8.
202. Park HJ, Kim JY, Kim J, Lee JH, Hahn JS, Gu MB, et al. Silver-ion-mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity. Water Res. 2009 Mar;43(4):1027-32.
203. Carlson C, Hussain SM, Schrand AM, Braydich-Stolle LK, Hess KL, Jones RL, et al. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. J Phys Chem B. 2008 Oct 30;112(43):13608-19.
204. Bhabra G, Sood A, Fisher B, Cartwright L, Saunders M, Evans WH, et al. Nanoparticles can cause DNA damage across a cellular barrier. Nat Nanotechnol. 2009 Dec;4(12):876-83.
205. Ravishankar Rai V, Jamuna Bai A. Nanoparticles and their potential application as antimicrobials. Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances. In: Méndez-Vilas, A., Ed., Formatex, Microbiology Series. 2011;3(1):197-209.

206. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci.* 2004 Jul 1;275(1):177-82.
207. Sanpui P, Murugadoss A, Prasad PV, Ghosh SS, Chattopadhyay A. The antibacterial properties of a novel chitosan-Ag-nanoparticle composite. *Int J Food Microbiol.* 2008 May 31;124(2):142-6.
208. MoronesJR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramírez JT, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology.* 2005 Oct;16(10):2346-53.
209. Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P, Dash D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology.* 2007;18(22),225103–225112.
210. Yang W, Shen C, Ji Q, An H, Wang J, Liu Q, et al. Food storage material silver nanoparticles interfere with DNA replication fidelity and bind with DNA. *Nanotechnology.* 2009 Feb 25;20(8):085102.
211. Lok CN, Ho CM, Chen R, He QY, Yu WY, Sun H, et al. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J Biol Inorg Chem.* 2007 May;12(4):527-34.
212. Yamanaka M, Hara K, Kudo J. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *Appl Environ Microbiol.* 2005 Nov;71(11):7589-93.
213. Jung WK, Koo HC, Kim KW, Shin S, Kim SH, Park YH. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* 2008 Apr;74(7):2171-8.
214. Lok CN, Ho CM, Chen R, He QY, Yu WY, Sun H, et al. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *J Proteome Res.* 2006 Apr;5(4):916-24.
215. Arora S, Rajwade JM, Paknikar KM. Nanotoxicology and in vitro studies: the need of the hour. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012 Jan 15;258(2):151-65.

216. Савин ЕИ, Субботина ТИ, Хадарцев АА, Хренов ПА, Честнова ТВ, Бузулуков ЮП, и др. Экспериментальное исследование антибактериальной активности наночастиц серебра на модели перитонита и менингоэнцефалита *in vivo*. Вестник новых медицинских технологий. 2014;1:1-6.
217. Довнар РИ, Смотрин СМ, Васильков АЮ, Жмакин АИ. Антибактериальный и противогрибковый эффект перевязочного материала, содержащего наночастицы серебра. Новости хирургии. 2010;18(6):3-11.
218. Mohajeri-Tehrani MR, Aalaa M. The Effect of Nanosilver Products in Prevention and Management of Diabetic Foot Ulcer. *J Biomol Res Ther*. 2013;2(3).
219. Tian J. The effect of nano silver particles on cytokine expression and wound healing in an animal thermal injury model. The HKU Scholars Hub. The University of Hong Kong. 2004. p. 110.
220. Журба ВА, Руколь ВМ, Веремей ЭИ, Лабкович АВ. Применение перевязочного материала с наночастицами серебра при гнойно-некротических поражениях кожи у коров. Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2014;113(3):79-82.
221. Prabhu S, Poulouse E. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*. 2012;2:32-41.
222. Hui-Qing X, Jiang-Lin Z, Jian-da Z, Yao C, Long-Yu J. Detection, biological effectiveness, and characterization of nanosilver-epidermal growth factor sustained-release carrier. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013;7(7):397-404.
223. Пархоменко НА, Кисельова ТФ. Чувствительность микроорганизмов - патогенов кожи животных и людей к серебросодержащему препарату «Аргодерм». В: Съезд Украинского микробиологического общества. Ужгород; 2010. с. 234.

224. Huang Y, Li X, Liao Z, Zhang G, Liu Q, Tang J, et al. A randomized comparative trial between Acticoat and SD-Ag in the treatment of residual burn wounds, including safety analysis. *Burns*. 2007 Mar;33(2):161-6.
225. Chen J, Han CM, Lin XW, Tang ZJ, Su SJ. [Effect of silver nanoparticle dressing on second degree burn wound]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2006 Jan 1;44(1):50-2. Chinese. PMID: 16620649.
226. Vlachou E, Chipp E, Shale E, Wilson YT, Papini R, Moiemmen NS. The safety of nanocrystalline silver dressings on burns: a study of systemic silver absorption. *Burns*. 2007 Dec;33(8):979-85.
227. Asz D, Moushey R, Seigel J, Mallory SB, Foglia RP. Treatment of toxic epidermal necrolysis in a pediatric patient with a nanocrystalline silver dressing. *J Pediatr Surg*. 2006 Dec;41(12):e9-12.
228. Yang JY, Huang CY, Chuang SS, Chen CC. A clinical experience of treating exfoliative wounds using nanocrystalline silver-containing dressings (Acticoat). *Burns*. 2007 Sep;33(6):793-7.
229. Sibbald RG, Contreras-Ruiz J, Coutts P, Fierheller M, Rothman A, Woo K. Bacteriology, inflammation, and healing: a study of nanocrystalline silver dressings in chronic venous leg ulcers. *Adv Skin Wound Care*. 2007 Oct;20(10):549-58.
230. Nadworny PL, Wang J, Tredget EE, Burrell RE. Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver in a porcine contact dermatitis model. *Nanomedicine*. 2008 Sep;4(3):241-51.
231. Lu S, Gao W, Gu HY. Construction, application and biosafety of silver nanocrystalline chitosan wound dressing. *Burns*. 2008 Aug;34(5):623-8.
232. Sibbald RG, Contreras-Ruiz J, Coutts P, Fierheller M, Rothman A, Woo K. Bacteriology, inflammation, and healing: a study of nanocrystalline silver dressings in chronic venous leg ulcers. *Adv Skin Wound Care*. 2007 Oct;20(10):549-58.

233. Paladini F, Pollini M. Antimicrobial Silver Nanoparticles for Wound Healing Application: Progress and Future Trends. *Materials (Basel)*. 2019 Aug 9;12(16):2540.
234. Barkat MA, Harshita, Beg S, Naim MJ, Pottoo FH, Singh SP, et al. Current Progress in Synthesis, Characterization and Applications of Silver Nanoparticles: Precepts and Prospects. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*. 2018;13(1):53-69.
235. Lansdown AB, Sampson B, Rowe A. Experimental observations in the rat on the influence of cadmium on skin wound repair. *Int J Exp Pathol*. 2001 Feb;82(1):35-41.
236. Lansdown AB. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl Dermatol*. 2006;33:17-34.
237. Lansdown AB. Physiological and toxicological changes in the skin resulting from the action and interaction of metal ions. *Crit Rev Toxicol*. 1995;25(5):397-462.
238. Hostýnek JJ, Hinz RS, Lorence CR, Price M, Guy RH. Metals and the skin. *Crit Rev Toxicol*. 1993;23(2):171-235.
239. Bleehen SS, Gould DJ, Harrington CI, Durrant TE, Slater DN, Underwood JC. Occupational argyria; light and electron microscopic studies and X-ray microanalysis. *Br J Dermatol*. 1981 Jan;104(1):19-26.
240. Di Vincenzo GD, Giordano CJ, Schriever LS. Biologic monitoring of workers exposed to silver. *Int Arch Occup Environ Health*. 1985;56(3):207-15.
241. Fung MC, Bowen DL. Silver products for medical indications: risk-benefit assessment. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1996;34(1):119-26.
242. Drake PL, Hazelwood KJ. Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review. *Ann Occup Hyg*. 2005 Oct;49(7):575-85.
243. Armitage SA, White MA, Wilson HK. The determination of silver in whole blood and its application to biological monitoring of occupationally exposed groups. *Ann Occup Hyg*. 1996 Jun;40(3):331-8.



244. Nørgaard O. Investigations with radioactive AG 111 into the resorption of silver through human skin. *Acta Derm Venereol.* 1954;34(5):415-9.
245. Larese FF, D'Agostin F, Crosera M, Adami G, Renzi N, Bovenzi M, et al. Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin. *Toxicology.* 2009 Jan 8;255(1-2):33-7.
246. Skog E, Wahlberg JE. A comparative investigation of the percutaneous absorption of metal compounds in the guinea pig by means of radioactive isotopes: <sup>51</sup>Cr, <sup>58</sup>Co, <sup>65</sup>Zn, <sup>110</sup>Mag, <sup>115</sup>Mcd, <sup>203</sup>Hg. *J Invest Dermatol.* 1964 Sep;43:187-92.
247. Lansdown AB, Williams A, Chandler S, Benfield S. Silver absorption and antibacterial efficacy of silver dressings. *J Wound Care.* 2005 Apr;14(4):155-60.
248. Karlsmark T, Agerslev RH, Bendz SH, Larsen JR, Roed-Petersen J, Andersen KE. Clinical performance of a new silver dressing, Contreet Foam, for chronic exuding venous leg ulcers. *J Wound Care.* 2003 Oct;12(9):351-4.
249. Burrell RE. A scientific perspective on the use of topical silver preparations. *Ostomy Wound Manage.* 2003 May;49(5A Suppl):19-24.
250. Wang XQ, Kempf M, Mott J, Chang HE, Francis R, Liu PY, et al. Silver absorption on burns after the application of Acticoat: data from pediatric patients and a porcine burn model. *J Burn Care Res.* 2009 Mar-Apr;30(2):341-8.
251. Barillo DJ, Attar PS, Marx DE. Blood silver levels in an animal model of full-thickness burn injury. *J Burn Care Res* 2013 34(2 suppl): S125.
252. Barillo DJ, Crutch CR, Reid F, Culley T, Sosna W, Roseman J. Blood and Tissue Silver Levels Following Application of Silver-Based Dressings to Sulfur Mustard Chemical Burns. *J Burn Care Res.* 2017 Sep/Oct;38(5):e818-e823.
253. Kharkar PM, Osborne SN, Stern SL, Pleitner A, Wiencek KM, Kieswetter KM. Assessment of Silver Levels in a Closed-Incision Negative

- Pressure Therapy Dressing: In Vitro and In Vivo Study. *Adv Wound Care* (New Rochelle). 2020 Aug;9(8):462-471.
254. Perrelli G, Piolatto G. Tentative reference values for gold, silver and platinum: literature data analysis. *Sci Total Environ*. 1992 Jun 9;120(1-2):93-6.
255. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів [Інтернет]. 2007 [цитовано 2021 Бер 31]. Наказ МОЗ України № 167. 2007 Квіт 05. Доступно: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0167282-07#Text>
256. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений [Інтернет]. 1985 [цитировано 2021 Май 31]. Приказ МЗ СССР N 535. 1985 Апр 22. Доступно: <https://docs.cntd.ru/document/420245293>
257. Thermo Fisher. Scientific. alamarBlue HS and alamarBlue Cell Viability Protocol, for Microplates [Internet]. [cited 2021 Jan 20]. Available from: <https://www.thermofisher.com/ua/en/home/references/protocols/cell-and-tissue-analysis/protocols/alamarblue-cell-viability-reagent-for-microplates-protocol.html>
258. Thermo Fisher Scientific. alamarBlue Assay [Internet]. [cited 2021 Jan 20]. United States patent No. 5,501,959. Available from: [https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/PI-DAL1025-1100\\_TI%20alamarBlue%20Rev%201.1.pdf](https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/PI-DAL1025-1100_TI%20alamarBlue%20Rev%201.1.pdf)
259. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [Інтернет]. 1986 [цитовано 2021 Лис 22]. Офіційний переклад. 1986 Бер 18. Доступно: [http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/994\\_137](http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/994_137)
260. Про захист тварин від жорстокого поводження [Інтернет]. 2006 [цитовано 2021 Бер 31]. Закон України № 3447-IV. 2006 Лют 21. Доступно: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>

261. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Погорелов МВ, Голубнича ВМ, Опанасюк АС, винахідники; Сумський державний університет, патентовласник. Спосіб лікування гнійних ран наночастинками срібла в умовах ультразвукової кавітації. Патент України № 139132. 2019 Груд 26.
262. World Health Organization Model List of Essential Medicines [Internet]. 21st List. Geneva: World Health Organization; 2019 [cited 2021 Jan 20]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325771/WHO-MVP-EMP-IAU-2019.06-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
263. Про внесення змін до Національного переліку основних лікарських засобів [Internet]. 2017 [цитовано 2021 Січ 20]. Постанова Кабінету Міністрів України № 1081. 2017 Груд 13. Доступно: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1081-2017-%D0%BF#Text>
264. Даценко БМ. Теория и практика местного лечения гнойных ран. Киев: Здоровья; 1995. 384 с.
265. Спектрофотометр атомно-абсорбционный С-115-М1. Техническое описание и инструкция по эксплуатации: 2.851.034-04 ТО СССР. Москва: Внешторгиздат; 1989. 47 с.
266. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V, Sikora V, Deineka V, Lyndin M, et al. Low-frequency ultrasound increase effectiveness of silver nanoparticles in a purulent wound model. *Biomed Eng Lett* [Internet]. 2020 Oct 17 [cited 2021 Feb 19];10(4):621-31. DOI: 10.1007/s13534-020-00174-5
267. Holubnycha V, Myronov P, Bugaiov V, Opanasyuk A, Dobrozhan O, Yanovska A, et al. Effect of ultrasound treatment on chitosan-silver nanoparticles antimicrobial activity. In: 8th International Conference on Nanomaterials: Applications and Properties [Internet]; 2018 Sept 9-14; Zatoka, Ukraine. IEEE; 2018 [cited 2019 Dec 18]; p. 04NNLS09-1-4. DOI: 10.1109/NAP.2018.8914849
268. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Голубнича ВМ, Погорелов МВ. Застосування наночастинок срібла в умовах ультразвукової кавітації при лікуванні

- гнійної хірургічної інфекції. Харківська хірургічна школа. 2019 Лют 20;1(94):60-4.
269. Миронов ПФ, Бугаев ВИ, Тимакова ЕА, Роговська ЛА. Цитологическая характеристика экспериментальных гнойных ран при лечении наночастицами серебра. Український журнал медицини, біології та спорту. [Интернет]. 2019 [цитировано 2020 Січ 22];4(6):60-6. DOI: 10.26693/jmbs04.06.060
270. Myronov PF, Bugaiov VI, Tymakova OO, Pogorielov MV, Oranasyuk AS. Cytological examination of experimental purulent wounds in the treatment of silver nanoparticles in ultrasound cavitation. EUMJ [Internet]. 2019 Dec 29 [cited 2020 Oct 21];7(4):389-95. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7\(4\):386-95](https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7(4):386-95)
271. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V. Combined antimicrobial effect of silver nanoparticles and ultrasound. In: Pogorielov M, editor. Topical issues of theoretical and clinical medicine. International scientific and practical conference of students, postgraduates and young scientists; 2018 Oct 17-19; Sumy. Sumy: Sumy State University; 2018. p. 98.
272. Holubnycha V, Myronov P, Husak Ye. Susceptibility of gram-negative rods to metallic nanoparticles. Medicine. 2019;55(suppl.1):94. (International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia; 2019 Feb 22; Riga.)
273. Миронов ПФ, Голубнича ВМ, Бугайов ВІ. Антибактеріальні властивості поєданого застосування наночастинок срібла, міді та ультразвуку. В: XVI міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2019 Бер 28-29; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2019, с. 174-5.
274. Миронов ПФ. Лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Кондратенко ПГ, редактор. Матеріали 81-го наукового медичного конгресу студентів та молодих

- вчених. Медицина XXI сторіччя; 2019 Квіт 25-26; Краматорськ. Краматорськ: ТОВ «Краматорський друкарський дім»; 2019. с. 244-5.
275. Myronov P, Buzyna O, Bugaiov V. Application of silver nanoparticles and ultrasound in the treatment of purulent wounds. In: Tekin E, Oner C, editors. Istanbul international student congress. Current and emerging diseases; 2019 May 16-17; Istanbul. Turkey: Istanbul; 2019. p. 31-2.
276. Myronov P, Deineka V, Solodovnyk O. Cell toxicity of AgNPs and chitosan-AgNPs complex. In: International conference. Nanomaterials for biosensors and biomedical applications; 2019 2-4 July; Jurmala. Latvia; 2019. p. 55.
277. Myronov P. Microbiological evaluation the effectiveness of the purulent wounds healing with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In: Pogorielov M, editor. International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives; 2019 Oct 16-18; Sumy. Sumy: State University; 2019. p. 131.
278. Myronov P, Savchenko A, Husak Ye, Korniienko V, Holubnycha V. The influence of silver nanoparticles on formation of the escherichia coli biofilms. В: Руденок ТА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти. Медицина XXI століття; 2019 Лист 29; Харків. Харків: ХМАПО; 2019, с. 90.
279. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Опанасюк АМ, Загородня ТМ. Цитологічна характеристика експериментальних гнійних ран при лікуванні наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Руденок ТА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти. Медицина XXI століття; 2019 Лист 29; Харків. Харків: ХМАПО; 2019. с. 53-54.
280. Holubnycha V, Korniienko V, Myronov P. Antibiofilm activity of Ag nanoparticles against methicillin-resistant *S. aureus*. *Medicine*. 2020; 56(suppl.1):260. (International Scientific Conference on Medicine organized

within the frame of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia; 2020; Riga.)

281. Myronov P, Zahorodnya T. Efficiency of experimental chronic purulent wounds treatment with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In: Pogorielov M, editor. International Scientific Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives II; 2020 Oct 20-22; Sumy. Sumy: State University; 2020. p. 101.
282. Миронов ПФ. Антибактеріальні властивості наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні експериментальних хронічних гнійних ран. В: Матвєєнко МС, редактор. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2021 Квіт 22-23; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2021, с. 102-3.
283. Миронов П. Гістологічні особливості процесу загоєння гнійних ран при лікуванні наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Корда ММ, редактор. XXV міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених; 2021 Квіт 12-14; Тернопіль. Тернопіль: «Укрмедкнига»; 2021, с. 123.
284. Миронов ПФ. Гистологические особенности процесса заживления гнойных ран при лечении наночастицами серебра. Журнал гепатогастроэнтерологических исследований. 2021;2(1):796-7. (Материалы 75-ой Международной научн.-практ. конф. студентов-медиков и молодых учёных. Современная медицина и фармацевтика: новые подходы и актуальные исследования; 2021; Самарканд.)
285. Monahan M, Jowett S, Pinkney T, Brocklehurst P, Morton DG, Abdali Z, et al. Surgical site infection and costs in low- and middle-income countries: A systematic review of the economic burden. PLoS One. 2020 Jun 4;15(6):e0232960.
286. Martin RF. Wound Healing. Surg Clin North Am. 2020 Aug;100(4):ix-xi.

287. Bowers S, Franco E. Chronic Wounds: Evaluation and Management. *Am Fam Physician*. 2020 Feb 1;101(3):159-166.
288. Ansari MA, Khan HM, Khan AA, Cameotra SS, Alzohairy MA. Anti-biofilm efficacy of silver nanoparticles against MRSA and MRSE isolated from wounds in a tertiary care hospital. *Indian J Med Microbiol*. 2015 Jan-Mar;33(1):101-9.

## ДОДАТКИ

### Додаток 1

#### Список публікацій здобувача за темою дисертації

1. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V, Sikora V, Deineka V, Lyndin M, et al. Low-frequency ultrasound increase effectiveness of silver nanoparticles in a purulent wound model. *Biomed Eng Lett* [Internet]. 2020 Oct 17 [cited 2021 Feb 19];10(4):621-31. DOI: 10.1007/s13534-020-00174-5
2. Holubnycha V, Myronov P, Bugaiov V, Opanasyuk A, Dobrozhan O, Yanovska A, et al. Effect of ultrasound treatment on chitosan-silver nanoparticles antimicrobial activity. In: 8th International Conference on Nanomaterials: Applications and Properties [Internet]; 2018 Sept 9-14; Zatoka, Ukraine. IEEE; 2018 [cited 2019 Dec 18]; p. 04NNLS09-1-4. DOI: 10.1109/NAP.2018.8914849
3. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Голубнича ВМ, Погорелов МВ. Застосування наночастинок срібла в умовах ультразвукової кавітації при лікуванні гнійної хірургічної інфекції. Харківська хірургічна школа. 2019 Лют 20;1(94):60-4.
4. Миронов ПФ, Бугаев ВІ, Тимакова ЕА, Рогульская ЛА. Цитологическая характеристика экспериментальных гнойных ран при лечении наночастицами серебра. *Український журнал медицини, біології та спорту*. [Интернет]. 2019 [цитировано 2020 Січ 22];4(6):60-6. DOI: 10.26693/jmbs04.06.060
5. Myronov PF, Bugaiov VI, Tymakova OO, Pogorielov MV, Opanasyuk AS. Cytological examination of experimental purulent wounds in the treatment of silver nanoparticles in ultrasound cavitation. *EUMJ* [Internet]. 2019 Dec 29 [cited 2020 Oct 21];7(4):389-95. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7\(4\):386-95](https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7(4):386-95)
6. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V. Combined antimicrobial effect of silver nanoparticles and ultrasound. In: Pogorielov M, editor. Topical issues of theoretical and clinical medicine. International scientific and practical conference of students, postgraduates and young scientists; 2018 Oct 17-19; Sumy. Sumy: Sumy State University; 2018. p. 98.
7. Holubnycha V, Myronov P, Husak Ye. Susceptibility of gram-negative rods to metallic nanoparticles. *Medicine*. 2019;55(suppl.1):94. (International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia; 2019 Feb 22; Riga.)
8. Миронов ПФ, Голубнича ВМ, Бугайов ВІ. Антибактеріальні властивості поєданого застосування наночастинок срібла, міді та ультразвуку. В: XVI міжнародна наукова конференція студентів, молодих



вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2019 Бер 28-29; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2019, с. 174-5.

9. Миронов ПФ. Лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Кондратенко ПГ, редактор. Матеріали 81-го наукового медичного конгресу студентів та молодих вчених. Медицина ХХІ сторіччя; 2019 Квіт 25-26; Краматорськ. Краматорськ: ТОВ «Краматорський друкарський дім»; 2019. с. 244-5.

10. Myronov P, Buzyna O, Bugaiov V. Application of silver nanoparticles and ultrasound in the treatment of purulent wounds. In: Tekin E, Oner C, editors. Istanbul international student congress. Current and emerging diseases; 2019 May 16-17; Istanbul. Turkey: Istanbul; 2019. p. 31-2.

11. Myronov P, Deineka V, Solodovnyk O. Cell toxicity of AgNPs and chitosan-AgNPs complex. In: International conference. Nanomaterials for biosensors and biomedical applications; 2019 2-4 July; Jurmala. Latvia; 2019. p. 55.

12. Myronov P. Microbiological evaluation the effectiveness of the purulent wounds healing with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In: Pogorielov M, editor. International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives; 2019 Oct 16-18; Sumy. Sumy: State University; 2019. p. 131.

13. Myronov P, Savchenko A, Husak Ye, Korniienko V, Holubnycha V. The influence of silver nanoparticles on formation of the escherichia coli biofilms. В: Руденок ТА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти. Медицина ХХІ століття; 2019 Лист 29; Харків. Харків: ХМАПО; 2019, с. 90.

14. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Опанасюк АМ, Загородня ТМ. Цитологічна характеристика експериментальних гнійних ран при лікуванні наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Руденок ТА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти. Медицина ХХІ століття; 2019 Лист 29; Харків. Харків: ХМАПО; 2019. с. 53-54.

15. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Погорелов МВ, Голубнича ВМ, Опанасюк АС, винахідники; Сумський державний університет, патентовласник. Спосіб лікування гнійних ран наночастинками срібла в умовах ультразвукової кавітації. Патент України № 139132. 2019 Груд 26.

16. Holubnycha V, Korniienko V, Myronov P. Antibiofilm activity of Ag nanoparticles against methicillin-resistant *S. aureus*. *Medicine*. 2020; 56(suppl.1):260. (International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia; 2020; Riga.)

17. Myronov P, Zahorodnya T. Efficiency of experimental chronic purulent wounds treatment with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In: Pogorielov M, editor. International Scientific Conference of Students,

Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives II; 2020 Oct 20-22; Sumy. Sumy: State University; 2020. p. 101.

18. Миронов ПФ. Антибактеріальні властивості наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні експериментальних хронічних гнійних ран. В: Матвеєнко МС, редактор. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2021 Квіт 22-23; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2021, с. 102-3.

19. Миронов П. Гістологічні особливості процесу загоєння гнійних ран при лікуванні наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Корда ММ, редактор. XXV міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених; 2021 Квіт 12-14; Тернопіль. Тернопіль: «Укрмедкнига»; 2021, с. 123.

20. Миронов ПФ. Гистологические особенности процесса заживления гнойных ран при лечении наночастицами серебра. Журнал гепато-гастроэнтерологических исследований. 2021;2(1):796-7. (Материалы 75-ой Международной научн.-практ. конф. студентов-медиков и молодых учёных. Современная медицина и фармацевтика: новые подходы и актуальные исследования; 2021; Самарканд.)

## Додаток 2

## Патент на корисну модель



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **139132** (13) **U**

(51) МПК (2019.01)

**A61N 7/00****A61L 15/00****A61F 13/00****A61B 18/00****A61K 9/08** (2006.01)**A61K 31/00****A61P 17/02** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 05464</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>21.05.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>26.12.2019</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>26.12.2019, Бюл.№ 24</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Миронов Петро Федорович (UA), Бугайов Володимир Іванович (UA), Погорелов Максим Володимирович (UA), Голубнича Вікторія Миколаївна (UA), Опанасюк Анатолій Сергійович (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)</b></p>
--	---

**(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ГНІЙНИХ РАН НАНОЧАСТИНКАМИ СРІБЛА В УМОВАХ УЛЬТРАЗВУКОВОЇ КАВІТАЦІЇ****(57) Реферат:**

Спосіб лікування гнійних ран наночастинками срібла в умовах ультразвукової кавітації включає хірургічну обробку рани з евакуацією гною, видалення осередків некрозу та гнійно-некротичних мас, заливку порожнини ранообмежувача розчином лікарського засобу з наступною обробкою низькочастотним ультразвуком. Розчин лікарського засобу містить 0,01 % наночастинок срібла. Після проведення обробки рани ультразвуком на рану накладають один раз на добу марлеву пов'язку, просякнуту 0,02 % розчином наночастинок срібла до повного загоєння рани.

**UA 139132 U**

## Додаток 3

### Акти впровадження

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Заступник директора з наукової роботи  
Національного інституту хірургії та трансплантології

ім. О.О. Шалімова НАМН України

Д.Мед.н. М.В.Костилен

« 21 листопада 2021р.

#### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиція для впровадження:** «Ефективність лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком (експериментальне дослідження)»

**Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра хірургії, травматології, ортопедії та фізіатрії (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31)

**Автор:** аспірант кафедри хірургії, травматології, ортопедії та фізіатрії Миронов Петро Федорович та співавтори.

**Джерело інформації:**

1. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V, Sikora V, Deineka V, Lyndin M, et al. Low-frequency ultrasound increase effectiveness of silver nanoparticles in a purulent wound model. Biomed Eng Lett [Internet]. 2020 Oct 17 [cited 2021 Feb 19];10(4):621-31. DOI: 10.1007/s13534-020-00174-5

2. Myronov PF, Bugaiov VI, Tymakova OO, Pogorielov MV, Opanasyuk AS. Cytological examination of experimental purulent wounds in the treatment of silver nanoparticles in ultrasound cavitation. EUMJ [Internet]. 2019 Dec 29 [cited 2020 Oct 21];7(4):389-95. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7\(4\):386-95](https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7(4):386-95)

**Базова установа, яка проводить впровадження:** відділ хірургії підшлункової залози та жовчєвивідних проток Національного інституту хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України.

**Термін впровадження:** вересень-листопад 2021 року.

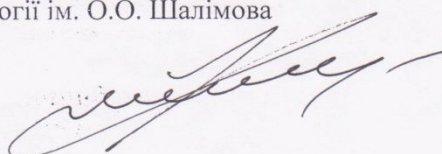
**Форми впровадження:** апробація методики.

**Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень дозволило розширити знання щодо можливостей лікування гнійної хірургічної інфекції.

**Зауваження та пропозиції:** немає.

Обговорено та затверджено на засіданні відділу хірургії підшлункової залози та жовчєвивідних проток Національного інституту хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України.

Завідувач відділу хірургії підшлункової залози та жовчєвивідних проток Національного інституту хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова  
НАМН України,  
д. мед. н, професор



В.М. Копчак

## Додаток 4



«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Професор з наукової роботи  
 Харківського національного  
 медичного університету  
 професор М'ясоєдов В.В.  
 «3» 12 2021р.

## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: «Ефективність лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком (експериментальне дослідження)»
2. Ким і коли запропонований: Сумський державний університет МОН України, кафедра хірургії, травматології, ортопедії та фтизіатрії (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), аспірант кафедри хірургії, травматології, ортопедії та фтизіатрії Миронов Петро Федорович та співавтори.
3. Джерело інформації:
  - 1) Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Голубнича ВМ, Погорелов МВ. Застосування наночастинок срібла в умовах ультразвукової кавітації при лікуванні гнійної хірургічної інфекції. Харківська хірургічна школа. 2019 Лют 20;1(94):60-4.
  - 2) Миронов ПФ, Бугаєв ВІ, Тимакова ЕА, Роговська ЛА. Цитологическая характеристика экспериментальных гнойных ран при лечении наночастицами серебра. Український журнал медицини, біології та спорту. [Интернет]. 2019 [цитировано 2020 Січ 22];4(6):60-6. DOI: 10.26693/jmbs04.06.060.
4. Де і коли введено: Харківський національний медичний університет; жовтень- листопад 2021р.
5. Результати застосування методу за період з 2020 р. по 2021 рр.: прискорення загоєння гнійних ран.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): застосування наночастинок срібла в умовах ультразвукової кавітації при лікуванні гнійних ран дозволили скоротити терміни заживлення на 19%.
7. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:  
 завідувач кафедри онкології ХНМУ,  
 доктор медичних наук, професор  
 «2» 12 2021р.

Стариков В.І.

## Додаток 5



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиція для впровадження:** «Ефективність лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком (експериментальне дослідження)».

**Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул. Р. Корсакова, 2, 40007. Миронов П.Ф.

**Джерело інформації:**

1. Holubnycha V, Myronov P, Bugaiov V, Opanasyuk A, Dobrozhan O, Yanovska A, et al. Effect of ultrasound treatment on chitosan-silver nanoparticles antimicrobial activity. In: 8th International Conference on Nanomaterials: Applications and Properties [Internet]; 2018 Sept 9-14; Zatoka, Ukraine. IEEE; 2018 [cited 2019 Dec 18]; p. 04NNLS09-1-4. DOI: 10.1109/NAP.2018.8914849
2. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V. Combined antimicrobial effect of silver nanoparticles and ultrasound. In: Pogorielov M, editor. Topical issues of theoretical and clinical medicine. International scientific and practical conference of students, postgraduates and young scientists; 2018 Oct 17-19; Sumy. Sumy: Sumy State University; 2018. p. 98.
3. Миронов П.Ф. Антибактеріальні властивості наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні експериментальних хронічних гнійних ран. В: Матвеєнко МС, редактор. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2021 Квіт 22-23; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2021, с. 102-3.
4. Myronov P, Buzyna O, Bugaiov V. Application of silver nanoparticles and ultrasound in the treatment of purulent wounds. In: Tekin E, Oner C, editors. Istanbul international student congress. Current and emerging diseases; 2019 May 16-17; Istanbul. Turkey: Istanbul; 2019. p. 31-2.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра громадського здоров'я Медичного інституту Сумського державного університету.

**Термін впровадження:** листопад 2021 року.

**Форми впровадження:** введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичних занять з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія».

**Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена та затверджена на засіданні кафедри громадського здоров'я (протокол № 4 від 09.11.2021 р.)

Завідувач кафедри громадського здоров'я  
Медичного інституту Сумського  
державного університету  
д. мед. наук, професор

В.А. Сміянов

## Додаток 6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Харківської медичної академії  
післядипломної освіти  
д. мед.н. проф. Георгіянц М.А.

«30»  2021р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиція для впровадження:** «Ефективність лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком (експериментальне дослідження)».

**Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул. Р. Корсакова, 2, 40007. Мирован Петро Федорович

**Джерело інформації:**

1. Мирован ПФ, Бугайов ВІ, Голубнича ВМ, Погорелов МВ. Застосування наночастинок срібла в умовах ультразвукової кавітації при лікуванні гнійної хірургічної інфекції. Харківська хірургічна школа. 2019 Лют 20;1(94):60-4.

2. Мирован ПФ. Гистологические особенности процесса заживления гнойных ран при лечении наночастицами серебра. Журнал гепато-гастроэнтерологических исследований. 2021;2(1):796-7. (Материалы 75-ой Международной научн.-практ. конф. студентов-медиков и молодых учёных. Современная медицина и фармацевтика: новые подходы и актуальные исследования; 2021; Самарканд.)

3. Myronov P, Zahorodnya T. Efficiency of experimental chronic purulent wounds treatment with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In: Pogorielov M, editor. International Scientific Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives II; 2020 Oct 20-22; Sumy. Sumy: State University; 2020. p. 101.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної хірургії, проктології та судинної хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти.

**Термін впровадження:** листопад-грудень 2021 року.

**Результат застосування:** матеріали використовуються в науковій та навчальній роботі кафедри

**Зауваження та пропозиції:** не поступило.

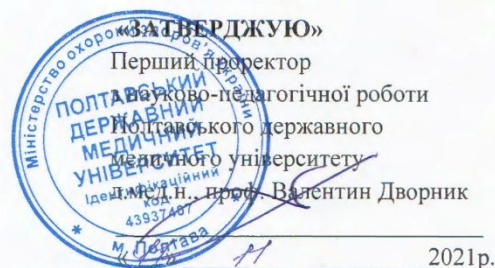
*Обговорено та затверджено на засіданні кафедри: протокол № 5 від 25.11.21р.*

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри загальної хірургії,  
проктології та судинної хірургії  
Харківської медичної академії  
післядипломної освіти  
д. мед. наук, професор



Т.І. Тамм

## Додаток 7



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиція для впровадження:** «Ефективність лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком (експериментальне дослідження)».

**Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул. Р. Корсакова, 2, 40007.

**Джерело інформації:**

1. Myronov P. Microbiological evaluation the effectiveness of the purulent wounds healing with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In: Pogorielov M, editor. International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives; 2019 Oct 16-18; Sumy. Sumy: State University; 2019. p. 131.
2. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V. Combined antimicrobial effect of silver nanoparticles and ultrasound. In: Pogorielov M, editor. Topical issues of theoretical and clinical medicine. International scientific and practical conference of students, postgraduates and young scientists; 2018 Oct 17-19; Sumy. Sumy: Sumy State University; 2018. p. 98.
3. Миронов ПФ. Антибактеріальні властивості наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні експериментальних хронічних гнійних ран. В: Матвєєнко МС, редактор. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2021 Квіт 22-23; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2021, с. 102-3.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету.

**Термін впровадження:** листопад-грудень 2021 року.

**Результат впровадження:** матеріали використовуються в науковій та навчальній роботі кафедри.

**Зауваження та пропозиції:** відсутні

*Обговорено та затверджено на засіданні кафедри мікробіології, вірусології та імунології протокол №6 від 10 листопада 2021 р.*

Завідувачка кафедри мікробіології,  
вірусології та імунології Полтавського  
державного медичного університету

д. мед. наук, професор

Галина Лобань