

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОММЕРЧЕСКИХ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ В КАЧЕСТВЕ МАТРИЦЫ-НОСИТЕЛЯ БАКТЕРИОФАГОВ

DOI: 10.17691/stm2024.16.1.05

УДК 616–001.17–085.468.21:615.281

Поступила 28.06.2023 г.



В.В. Бесчастнов, д.м.н., профессор, старший научный сотрудник Университетской клиники¹;

И.Ю. Широкова, к.м.н., зав. бактериологической лабораторией НИИ профилактической медицины¹;

доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины¹;

Н.А. Белянина, младший научный сотрудник Университетской клиники¹;

И.Е. Погодин, врач травматолог-ортопед, зав. ожоговым отделением (взрослых) Университетской клиники¹;

А.А. Тулупов, младший научный сотрудник Университетской клиники¹;

А.Г. Точилина, к.б.н., доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины¹;

старший научный сотрудник лаборатории микробиома человека и средств его коррекции²;

И.В. Белова, к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины¹;

ведущий научный сотрудник лаборатории микробиома человека и средств его коррекции²;

Ю.О. Тюменков, младший научный сотрудник Университетской клиники¹;

О.В. Ковалишена, д.м.н., профессор, зав. кафедрой эпидемиологии, микробиологии

и доказательной медицины¹; директор НИИ профилактической медицины Университетской клиники¹;

И.В. Соловьева, д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией микробиома человека и средств его коррекции²

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

²Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, ул. М. Ямская, 71, Н. Новгород, 603950

Цель исследования — изучение возможности использования коммерческих раневых покрытий, применяющихся для лечения инфицированных ран, в качестве матрицы-носителя бактериофагов.

Материалы и методы. Использовали 12 разновидностей коммерческих раневых покрытий на основе биополимеров природного и синтетического происхождения, биологический препарат «Стафилофаг» (НПО «Микроген», Россия; рег. удостоверение Р N001973/01) и тест-штамм *S. aureus* 3196 (GenBank JARQZO000000000), выделенный от пациента с ожоговой раной. Способность раневых покрытий к абсорбции растворов исследовали путем их погружения в физиологический раствор (pH=7,0–7,2) с последующим взвешиванием. Литическую активность трех серий бактериофага по отношению к тест-штамму изучали по методу Аппельмана и с использованием спот-теста. Исследования литической активности бактериофага в образцах раневых покрытий проводили в течение 7 сут с момента его абсорбции раневыми покрытиями.

Результаты. Наибольший объем жидкости был абсорбирован раневыми покрытиями ЛикоСорб, NEOFIX FibroSorb Ag, Биатравм и Хитокол-С. Установлено, что все серии бактериофага обладают высокой литической активностью по отношению к тест-штамму. Покрытия Хитокол-С, Коллахит-ФА, Альгипран и Aquacel Ag Extra в условиях *in vitro* обладают собственной антибактериальной активностью, стабильной в течение 7 сут, причем при их насыщении бактериофагом наблюдается увеличение зон лизиса тест-штамма. На 0-е сутки высокий уровень литической активности бактериофага с максимальным размером зон лизиса тест-штамма от 49 до 59 мм сохранялся во всех образцах раневых покрытий. До 1-х суток активность бактериофага сохранялась в образцах покрытий Hydrofilm, Полипран и NEOFIX FibroCold Ag, до 4-х суток — в покрытиях Альгипран, Нано-Асептика и Биатравм; в течение семи суток сохранялась активность бактериофага в образцах Хитокол-С, Коллахит-ФА, Opsite Post-Op Visible, NEOFIX FibroSorb Ag, Aquacel Ag Extra и ЛикоСорб.

Заключение. Современные коммерческие раневые покрытия на основе хитозан-коллагенового комплекса (Хитокол-С, Коллахит-ФА), полиуретана (Opsite Post-Op Visible, ЛикоСорб, NEOFIX FibroSorb Ag) и волокна Hydrofiber (Aquacel Ag Extra) обладают достаточным уровнем абсорбции бактериофага и обеспечивают стабильную сохранность его литической активности в условиях *in vitro* до семи суток. Исследования *in vitro* доказывают возможность применения таких покрытий в качестве матрицы-носителя бактериофагов.

Ключевые слова: коммерческие раневые покрытия; инфицированная рана; матрица-носитель; бактериофаг; антибиотикорезистентность *Staphylococcus aureus*; MRSA.

Для контактов: Точилина Анна Георгиевна, e-mail: lab-lb@yandex.ru

Как цитировать: Beschastnov V.V., Shirokova I.Yu., Belyanina N.A., Pogodin I.E., Tulupov A.A., Tochilina A.G., Belova I.V., Tyumenkov Yu.O., Kovalishena O.V., Soloveva I.V. Evaluation of the feasibility of using commercial wound coatings as a carrier matrix for bacteriophages. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2024; 16(1): 45, <https://doi.org/10.17691/stm2024.16.1.05>

English

Evaluation of the Feasibility of Using Commercial Wound Coatings as a Carrier Matrix for Bacteriophages

V.V. Beschastnov, MD, DSc, Professor, Senior Researcher, University Clinic¹;
I.Yu. Shirokova, MD, PhD, Head of the Bacteriology Laboratory, Research Institute of Preventive Medicine¹;
 Associate Professor, Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine¹;
N.A. Belyanina, Junior Researcher, University Clinic¹;
I.E. Pogodin, Orthopedic Traumatologist, Head of the Burns Department (for Adults), University Clinic¹;
A.A. Tulupov, Junior Researcher, University Clinic¹;
A.G. Tochilina, PhD, Associate Professor, Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine¹;
 Senior Researcher, Laboratory of Human Microbiome and Means for Its Correction²;
I.V. Belova, MD, PhD, Associate Professor, Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine¹;
 Leading Researcher, Laboratory of Human Microbiome and Means for Its Correction²;
Yu.O. Tyumenkov, Junior Researcher, University Clinic¹;
O.V. Kovalishena, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine¹; Director of the Research Institute of Preventive Medicine, University Clinic¹;
I.V. Soloveva, DSc, Associate Professor, Leading Researcher, Head of the Laboratory of Human Microbiome and Means for Its Correction²

¹Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

²Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor (Russian Federal Consumer Rights Protection and Human Health Control Service), 71 Malaya Yamskaya St., Nizhny Novgorod, 603950, Russia

The aim of the investigation is to study the possibility of applying commercial wound coatings for treating infected wounds as a carrier matrix for bacteriophages.

Materials and Methods. Twelve varieties of commercial wound coverings based on biopolymers of natural and synthetic origin, a biological preparation Staphylophag produced by scientific-industrial association Microgen (Russia), registration certificate P N001973/01, and the *S. aureus* 3196 test strain (GenBank JARQZO000000000) isolated from a patient with a burn wound have been used in our work. The ability of commercial biological wound coatings to absorb solutions was examined by immersing them in a physiological solution (pH 7.0–7.2) followed by weighing. The lytic activity of three bacteriophage series against the test strain was studied using the Appelman method and a spot test. The lytic activity of the bacteriophage in the wound samples was studied within 7 days after its absorption by the wound coatings.

Results. The greatest volume of fluid was absorbed by the LycoSorb, NEOFIX FibroSorb Ag, Biatravm, and Chitocol-S wound coatings. All bacteriophage series have been found to have a high lytic activity against the test strain. It has also been shown that Chitocol-S, Collachit-FA, Algipran, and Aquacel Ag Extra possessed their own inherent antibacterial activity under *in vitro* conditions stable for 7 days; moreover, the lysis zones of the test strain increased after their saturation with bacteriophage. On day 0, a high level of bacteriophage lytic activity with the maximum size of the test strain lysis zones from 49 to 59 mm have been found to remain in all samples of the wound coverings. The bacteriophage activity persisted for 1 day in the samples of Hydrofilm, Polypran, and NEOFIX FibroCold Ag coatings, up to 4 days in Algipran, Nano-Aseptica, and Biatravm coatings; and for 7 days in the Chitocol-S, Collachit-FA, Opsite Post-Op Visible, NEOFIX FibroSorb Ag, Aquacel Ag Extra, and LycoSorb samples.

Conclusion. Modern commercial wound dressings based on chitosan-collagen complex (Chitocol-S, Collachit-FA), polyurethane (Opsite Post-Op Visible, LycoSorb, NEOFIX FibroSorb Ag), and Hydrofiber (Aquacel Ag Extra) have a sufficient level of bacteriophage solution absorption, provide a stable preservation of the bacteriophage lytic activity under *in vitro* conditions up to 7 days. Thus, the *in vitro* studies prove the possibility of their use as a carrier matrix for bacteriophages.

Key words: commercial wound dressings; infected wound; carrier matrix; bacteriophage; antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus*; MRSA.

Введение

Особенностью хронических и длительно существующих ран, в том числе ожоговых, является возможность инфицирования антибиотикорезистентной

микрофлорой, что осложняет закрытие их ауто-, алло- или гетеропластическим материалом и служит абсолютным противопоказанием для использования при лечении таких ран клеточных технологий или других продуктов тканевой инженерии.

Антибиотикорезистентность микроорганизмов, колонизирующих раневые дефекты, является глобальной проблемой и служит стимулом развития альтернативных и дополнительных методов противомикробной терапии. Перспективным в этом плане признан метод борьбы с резистентными возбудителями раневой инфекции, подразумевающий использование вирулентных бактериофагов — вирусов, вызывающих лизис (разрушение) бактерий [1–3].

В Российской Федерации использование бактериофагов предусмотрено «Национальной концепцией профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи», утвержденной главным государственным санитарным врачом страны в 2011 г., а стратегия правительства по предупреждению распространения антимикробной резистентности на период до 2030 г. предусматривает разработку регламентов применения бактериофагов в различных областях здравоохранения [4].

Высокий интерес к бактериофагам обусловлен их свойствами: благодаря строгой специфичности действия лечебно-профилактические бактериофаги не угнетают нормальную микрофлору различных локусов организма человека, не подавляют иммунную защиту макроорганизма, не обладают токсическим действием и одинаково активны как против чувствительных, так и против устойчивых к антибиотикам штаммов микроорганизмов.

Высокая специфичность и эффективность бактериофагов обеспечивается тем, что они связываются со специфическими рецепторами клетки-хозяина и вызывают гибель соответствующих видов бактерий за счет внутриклеточного размножения и разрушения бактериальной клетки, что сопровождается выходом зрелых фаговых частиц, способных к заражению новых бактериальных клеток. Это дает возможность использовать бактериофаги в качестве альтернативного средства борьбы с возбудителями раневой инфекции в виде монотерапии или в сочетании с антибиотиками, что позволяет эффективно предупреждать формирование антибиотикорезистентных штаммов, в том числе MRSA (метициллин-резистентные *S. aureus*), одного из основных возбудителей инфекций ожоговых ран [5, 6].

Современные лечебно-профилактические бактериофаги представляют собой комплекс специально подобранных высоковирулентных бактериальных вирусов против наиболее часто встречающихся групп возбудителей бактериальных инфекций. Например, в роли биологического средства, активного против антибиотикорезистентных бактерий рода *Staphylococcus*, выступает высокоспецифичный биологический препарат «Стафилофаг» (НПО «Микроген», Россия).

Наибольшей результативности биологического метода лечения можно достичь местным применением бактериофагов в составе матрицы-носителя, что обусловлено закономерностями раневого процесса. Местная фаготерапия эффективна при соблюдении принципов, выработанных в последние годы на ос-

новании экспериментальных и клинических исследований. Одним из таких принципов является создание в зоне клинического интереса концентрации фагов, превышающей некоторое пороговое значение. Этот вопрос активно обсуждается и, по данным разных авторов [7–9], таким пороговым значением является 10^8 – 10^9 бляшкообразующих единиц (БОЕ/мл) или концентрация, превышающая концентрацию бактерий-мишеней на два порядка, т.е. в 100 раз. В настоящее время изучается возможность использования в качестве матриц-носителей для поддержания необходимой концентрации фагов в области раневого дефекта современных полимерных материалов [10, 11].

С целью расширения возможностей применения бактериофагов при лечении ран целесообразно рассмотреть использование в качестве их матриц-носителей современных коммерческих перевязочных материалов на основе полимеров природного (хитозан, альгинат натрия, целлюлоза и т.д.) и синтетического происхождения (поливиниловый спирт, полиуретаны и т.д.).

Хитозан — производное хитина, биоразлагаемый биополимер, состоящий из поли-N-ацетилглюкозамина, широко распространен в природе, является основой панциря морских членистоногих. Известно, что хитозан обладает гемостатическими, бактерицидными, фунгицидными, антиоксидантными и ранозаживляющими свойствами, показана возможность его использования в качестве скаффолда и носителя лекарственных средств [12–17]. Альгинат натрия — натуральный природный полисахарид, получаемый из бурых и красных морских водорослей, произрастающих в районе Индонезии. Он способен абсорбировать массу жидкости, в 300 раз превышающую собственную массу [18].

Поливиниловый спирт — синтетический полимер с высокой биосовместимостью, хорошими гидрофильными свойствами и биомеханическими характеристиками. Он может легко образовывать гидрогели и широко используется для создания перевязочных средств с контролируемым высвобождением лекарств. Ранее [19] нами были получены данные о высокой способности раневого покрытия на основе поливинилового спирта к абсорбции жидкости, что позволяет рассматривать его как возможную матрицу-носитель бактериофагов. Перспективными также являются раневые покрытия на основе полиуретана, характеризующиеся биологической нейтральностью, высокой впитывающей и удерживающей способностью, мягкостью, пластичностью и небольшой массой.

Согласно данным научной литературы [20, 21], все современные биополимеры имеют важные для лечения ран свойства: они нетоксичны, неиммуногенны, обладают достаточной механической прочностью и высокой гидрофильностью. Они способны эффективно абсорбировать и удерживать большое количество раневого экссудата и могут поддерживать оптимальную локальную влажность [20]. Наиболее простым и

экономически выгодным способом иммобилизации бактериофагов в области раневого дефекта является их абсорбция раневыми покрытиями [21].

Целью настоящего исследования явилось изучение возможности использования коммерческих раневых покрытий, применяющихся для лечения инфицированных ран, в качестве матрицы-носителя бактериофагов.

Материалы и методы

Используемые материалы. Для исследования были отобраны коммерческие раневые покрытия, выпускаемые различными производителями и применяемые при лечении пациентов с длительно существующими ранами (табл. 1).

В качестве модельного образца бактериофага, активного против антибиотикорезистентной флоры, был использован «Стафилофаг» (НПО «Микроген», Россия), рег. удостоверение Р N001973/01 (далее — бактериофаг), представляющий собой прозрачную жидкость желтого цвета различной интенсивности с

возможным зеленоватым оттенком, действующее вещество которого — стерильный очищенный фильтрат фаголизатов бактерий рода *Staphylococcus* (с активностью по Аппельману не менее 10^{-5}), серии Н 001, Н 003, Н 004 и Н 286.

Тест-штамм *S. aureus* 3196, выделенный от пациента с ожоговой раной, ранее был всесторонне изучен, охарактеризованы его биологические и молекулярно-генетические свойства. Штамм обладает типичными для вида биохимическими свойствами, лецитиназной и гемолитической активностью, относится к группе MRSA, устойчив к широкому спектру антибиотиков: пенициллинам, цефалоспорином, фторхинолонам и карбапенемам, чувствителен к тигециклину. В геноме штамма представлены детерминанты антибиотикорезистентности и патогенности (табл. 2).

Изучение абсорбирующей способности раневых покрытий. От каждого вида раневого покрытия отрезали ножницами по предварительно подготовленному трафарету квадратный образец (2×2 см) и погружали в 0,9% раствор хлорида натрия (стериль-

Т а б л и ц а 1

Раневые покрытия, использованные для выполнения работы

№	Название раневого покрытия	Производитель	Описание
<i>Раневые покрытия на основе биополимеров естественного происхождения</i>			
1	Хитокол-С	ООО «Эверс», Россия	Биоразлагаемая высокопористая лиофильно высушенная губка на основе хитозана и хитозан-коллагенового комплекса с включением ультрадисперсных частиц серебра, обезболивающего средства — анилокаина и протеолитического фермента — химотрипсина
2	Альгибран	ООО «Наполи», Россия	Повязка из нетканого материала — полиакрилонитрильных волокон, пропитанных раствором альгината натрия
3	Коллахит-ФА	ООО «Медицинская компания «Коллахит»», Россия	Биоразлагаемое лиофильно высушенное губчатое раневое покрытие на основе хитозана и коллагена с добавлением анилокаина и фурагина
<i>Раневые покрытия на основе биополимеров искусственного происхождения</i>			
4	Opsite Post-Op Visible	Smith & Nephew, Великобритания	Влагостойкая, бактерионепроницаемая полиуретановая пленка с ячеистой гигроскопической губкой в виде пчелиных сот
5	Hydrofilm	Hartmann, Германия	Раневое покрытие на основе полиуретановой пленки
6	NEOFIX FibroSorb Ag	Pharmaplast S.A.E., Египет	Раневое покрытие, в состав которого входят полиуретановая губка, полиуретановая пленка, ионы серебра
7	Нано-Асептика	ООО «Нано-Асептика», Россия	Раневое покрытие в виде полотна с наноструктурным покрытием серебром
8	Биатравм	«Линтекс», Россия	Раневое покрытие на основе модифицированного полиэфирного волокна и коллагеновой губки с антисептиком
9	Полибран	ООО «Новые перевязочные материалы», Россия	Гидрофильное пленочное раневое покрытие на основе поливинилового спирта с лидокаином
10	NEOFIX FibroCold Ag	Pharmaplast S.A.E., Египет	Гидроколлоидная клейкая раневая повязка с ионами серебра, снаружи покрытая антибактериальной водонепроницаемой полиуретановой пленкой
11	Aquacel Ag Extra	ConvaTec, Великобритания	Повязка на основе волокон Hydrofiber, которая приобретает гелевую консистенцию при контакте с раневым экссудатом
12	ЛикоСорб	Optimelle, Египет	Абсорбирующая адгезивная повязка, пропитанная комбинированным липидо-коллоидным составом из парафинового масла, мягкого парафина, связующего полимера, гидроколлоидного порошка и антиоксиданта, импрегнированного во вспененный полиуретан

Таблица 2

Молекулярно-генетические свойства тест-штамма *S. aureus* 3196

Размер генома, п.н.	GC-состав, %*	Количество кодирующих последовательностей (CDS)	Детерминанты антибиотикорезистентности	Гены вирулентности и патогенности	Сиквенс-тип (ST)	Номер в базе данных GenBank
2.771.910	32.9	2.883	<i>merR, merA, mgrA, LmrS, norC, norA</i> — молекулярные эффлюксные помпы <i>vanT</i> — устойчивость к гликопептидам <i>FosB</i> — устойчивость к фосфомицину <i>mecA</i> — устойчивость к метициллину	<i>aur</i> — ауреолизин <i>spIA, spIB, spIE</i> — протеазы <i>sak</i> — стафилокиназа <i>scn</i> — стафилококковый ингибитор комплемента <i>hlgA, hlgC</i> — гемолизины <i>lukD, lukE</i> — лейкоцидин D <i>sea</i> — энтеротоксин A	8	JARQZO00000000

* доля гуанина (G) и цитозина (C) среди всех остатков нуклеотидов рассматриваемой нуклеотидной последовательности.

ный физиологический раствор), pH=7,0–7,2. Перед погружением в раствор каждый образец раневого покрытия предварительно взвешивали на электронных весах (Асом JW-1-200, Корея). Затем его погружали в раствор на 1 мин, извлекали из раствора и через 30 с после стекания с него жидкости вновь помещали на весы. После фиксации результата взвешивания образец помещали в тот же раствор еще на 5 мин, затем повторяли взвешивание образца. Полученные результаты взвешивания образцов раневых покрытий площадью 4 см² пересчитывали для расчета массы жидкости на 1 см² поверхности раневого покрытия, сорбированной за 6 мин нахождения в растворе. Опыт выполняли в трех повторностях.

Изучение активности препарата «Стафилофаг» против тест-штамма *S. aureus* 3196. Активность различных серий бактериофага против тест-штамма *S. aureus* 3196 изучали с использованием метода Аппельмана [22], а также спот-теста [23]. Для проведения спот-теста готовили инокулят тест-штамма с концентрацией 1,5·10⁸ КОЕ/мл (0,5 по шкале МакФарланда), затем выполняли посев сплошным газоном на плотную питательную среду — агар Мюллера–Хинтон (M173; HiMedia, Индия). Через несколько минут после просыхания культуры на поверхность питательной среды наносили капли разных серий бактериофага в объеме 30 мкл и инкубировали при 37±1°C в течение 24 ч. Реакции лизиса (степень подавления видимого роста тест-штамма) учитывали невооруженным глазом при прямом освещении или под углом в 45° и оценивали по пятибалльной шкале [23].

Изучение сохранности (стабильности) литической активности бактериофагов в образцах раневых покрытий. Стабильность литической активности бактериофагов в образцах раневых покрытий изучали в течение срока, кратного выполнению перевязки инфицированной раны (до 4–7 сут). Чашки Петри с питательной средой (агар Мюллера–Хинтон) засеивали инокулятом тест-штамма *S. aureus* 3196 с концен-

трацией 1,5·10⁸ КОЕ/мл (0,5 по шкале МакФарланда). Образцы каждого вида раневого покрытия погружали в 0,9% раствор хлорида натрия (контроль) и бактериофаг (опыт), выдерживали в них в течение 5 мин, затем в асептических условиях переносили в стерильные чашки Петри. По одному образцу каждого раневого покрытия накладывали на чашку Петри, засеянную газоном тестовой культуры сразу после насыщения растворами (0-е сутки после абсорбции растворов), а оставшиеся образцы хранили в стерильных чашках Петри в термостате в асептических условиях и последовательно через 1, 2, 3, 4 и 7 сут после абсорбции выкладывали на свежеприготовленный газон культуры тест-штамма. Инкубацию выполняли в термостате при 37±1°C в течение 24 ч. Результат оценивали в соответствии с Методическими рекомендациями [23]. Опыт проводили в трех повторностях.

Статистическая обработка. Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью компьютерной программы Statistica 10.0. Оценку статистической значимости различий при сравнении групп по количественному признаку проводили с использованием непараметрических методов: для сравнения двух зависимых (связанных) групп применяли критерий Вилкоксона, для сравнения двух независимых (несвязанных) групп — критерий Манна–Уитни. Доверительные интервалы для относительных показателей оценивали по методу Уилсона. Выборочные параметры имеют следующие обозначения: Me [Q1; Q3], где Me — медиана, Q1 — верхний квартиль, Q3 — нижний квартиль; n — объем анализируемой подгруппы, p — величина статистической значимости различий. Критическое значение уровня значимости принимали равным 5% (p≤0,05).

Результаты

Исследования показали, что образцы изучаемых коммерческих раневых покрытий обладают разной способностью абсорбировать жидкость (рис. 1).

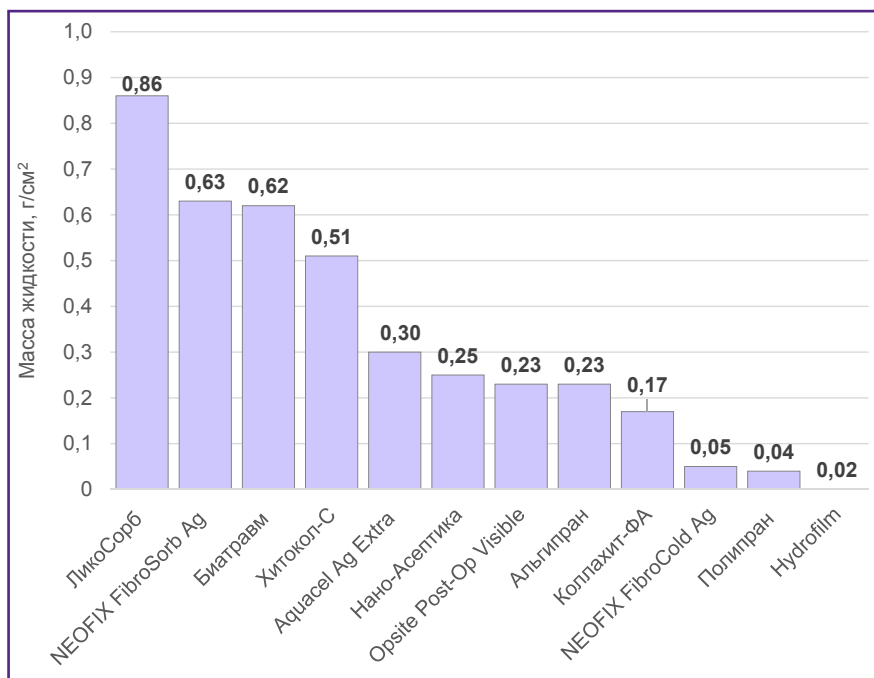


Рис. 1. Показатели впитывающей способности раневых покрытий
 Масса физиологического раствора, сорбированного раневыми покрытиями за 6 мин, г/см²

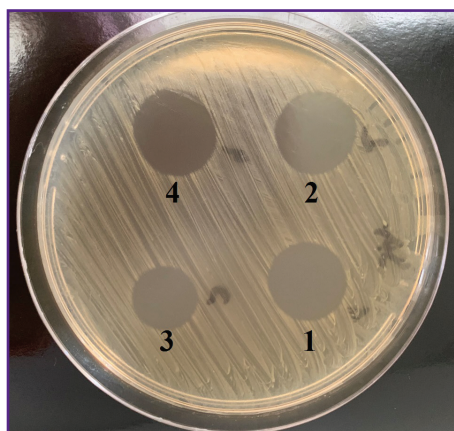


Рис. 2. Литическая активность стафилококкового бактериофага (НПО «Микроген», Россия) против тест-штамма *S. aureus* 3196:
 1 — серия Н 001; 2 — серия Н 003; 3 — серия Н 004; 4 — серия Н 286

Наибольшая масса жидкости была абсорбирована раневыми покрытиями ЛикоСорб — 0,86 [0,86; 0,92] г/см², NEOFIX FibroSorb Ag — 0,63 [0,61; 0,70] г/см², Биатравм — 0,62 [0,60; 0,67] г/см² и Хитокол-С — 0,51 [0,48; 0,52] г/см². В этой группе образцы ЛикоСорб, Хитокол-С и Биатравм были насыщены жидкостью за 1 мин, а образцы NEOFIX FibroSorb Ag за 1-ю минуту впитывали менее половины жидкости, оставшаяся часть была сорбирована за следующие 5 мин.

Наименьший объем жидкости был сорбиро-

ван раневыми покрытиями Hydrofilm — 0,02 [0,01; 0,03] г/см², Полипран — 0,04 [0,03; 0,04] г/см² и NEOFIX FibroCold Ag — 0,05 [0,04; 0,05] г/см², причем весь объем жидкости был набран за 1-ю минуту и в следующие 5 мин практически не увеличивался. Остальные образцы раневых покрытий сорбировали жидкость в 1-ю минуту погружения в раствор в объеме от 0,17 до 0,30 г/см².

В результате изучения активности бактериофага по методу Аппельмана установлено, что все его серии обеспечивают лизис культуры в титре не менее 10⁻⁵, а при проведении спот-теста на поверхности плотной питательной среды в местах нанесения всех серий бактериофага наблюдали прозрачные зоны лизиса культуры без колоний вторичного роста (рис. 2). Это свидетельствует о том, что все серии бактериофага обладают

высокой литической активностью против тест-штамма *S. aureus* 3196. Для дальнейшей работы была выбрана серия фага Н 286, обеспечивающая наибольший диаметр зоны лизиса тест-штамма.

В результате исследований установлено, что раневые покрытия Хитокол-С, Коллахит-ФА, Альгипран и Aquacel Ag Extra обладают собственной антибактериальной активностью. На 0-е сутки абсорбции, т.е. при помещении образцов этих раневых покрытий на тест-культуру непосредственно после замачивания в 0,9% растворе хлорида натрия и инкубации в течение 24 ч, наблюдалась прозрачная зона лизиса тест-штамма. Для образцов Хитокол-С, Коллахит-ФА и Aquacel Ag Extra зоны лизиса стабильно определялись в течение всех 7 сут исследования, для образца Альгипран зона лизиса была отмечена на 0, 1 и 2-е сутки, после чего на 3, 4, 7-е сутки зоны лизиса отсутствовали (табл. 3). Остальные коммерческие раневые покрытия не обладали собственной активностью в отношении выбранного нами тест-штамма.

Все коммерческие раневые покрытия, рассматриваемые в качестве матриц-носителей, сохранили высокую литическую активность фага на 0-е сутки, что характеризует их как биологически нейтральные к используемому бактериофагу. Диаметр зоны лизиса у образцов раневых покрытий, обладающих собственной антибактериальной активностью (Хитокол-С, Коллахит-ФА, Альгипран, Aquacel Ag Extra), на 0-е сутки при насыщении их бактериофагом был больше по сравнению с таковым при насыщении 0,9% раствором хлорида натрия на 18 [17; 21] мм (p<0,001) (рис. 3).

С 1-х суток абсорбции отмечены различия в лити-

Таблица 3

Зоны лизиса тест-штамма *S. aureus* 3196 бактериофагом серии Н 286 в составе коммерческих раневых покрытий

Раневое покрытие	Диаметр зоны лизиса в разные сутки после абсорбции, мм											
	0-е		1-е		2-е		3-и		4-е		7-е	
	физ-раствор	фаг	физ-раствор	фаг	физ-раствор	фаг	физ-раствор	фаг	физ-раствор	фаг	физ-раствор	фаг
Хитокол-С	40	59	40	58	38	55	38	55	35	50	34	49
Альгибран	39	55	39	55	35	50	0	49	0	0	0	0
Коллахит-ФА	38	56	38	56	36	54	36	53	34	52	28	47
Opsite Post-Op Visible	0	55	0	55	0	55	0	53	0	49	0	48
Hydrofilm	0	49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NEOFIX FibroSorb Ag	0	50	0	50	0	50	0	50	0	47	0	45
Нано-Асептика	0	49	0	49	0	48	0	44	0	0	0	0
Биатравм	0	51	0	50	0	50	0	46	0	0	0	0
Полипран	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NEOFIX FibroCold Ag	0	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aquacel Ag Extra	38	53	38	53	38	53	37	49	37	48	35	48
ЛикоСорб	0	58	0	58	0	58	0	54	0	48	0	48

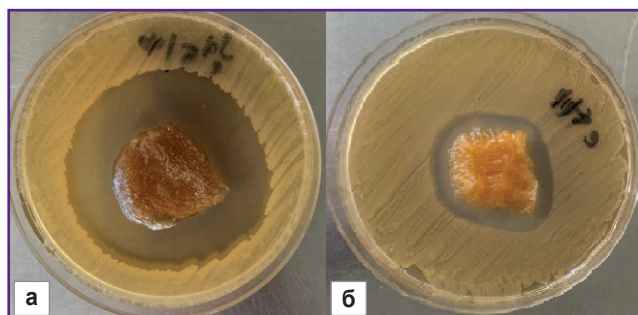


Рис. 3. Зоны лизиса культуры тест-штамма *S. aureus* 3196 под воздействием раневого покрытия Хитокол-С, пропитанного бактериофагом (а) и 0,9% раствором хлорида натрия (б) на 0-е сутки абсорбции

ческой активности бактериофага, иммобилизованного на разных раневых покрытиях. До 1-х суток активность бактериофага сохранялась в образцах покрытий Hydrofilm, Полипран и NEOFIX FibroCold Ag.

В раневых покрытиях Альгибран, Нано-Асептика, Биатравм литическая активность бактериофага сохранялась до 4-х суток, а в образцах Хитокол-С, Коллахит-ФА, Opsite Post-Op Visible, NEOFIX FibroSorb Ag, Aquacel Ag Extra и ЛикоСорб литическая активность бактериофага сохранялась в течение 7 сут. К последним суткам экспозиции раневых покрытий, абсорбирующих бактериофаг, зоны лизиса тест-штаммов уменьшались (см. табл. 3).

Обсуждение

Необходимо подчеркнуть, что проведенное исследование не оценивает качество раневых покрытий,

так как ни одно из них не разрабатывалось как матрица-носитель биологических объектов и не имеет соответствующих показаний для применения. Целью исследования было изучить возможности использования данных коммерческих раневых покрытий, применяющихся для лечения инфицированных ожоговых ран, в качестве матрицы-носителя бактериофагов, в частности их абсорбционную способность и возможность поддерживать стабильность литической активности бактериофагов в течение срока, кратного проведению перевязки инфицированной ожоговой раны, которая выполняется в среднем два раза в неделю под общей анестезией.

Установлено, что раневые покрытия в разной степени впитывают жидкость. Периоды времени погружения раневых покрытий в раствор — 1 мин и 6 мин — были выбраны исходя из клинической целесообразности, так как процесс подготовки пациента, снятия повязки и обнажения раневого дефекта в среднем занимает 5–6 мин и это время, пока выполняются манипуляции с раной, можно использовать для насыщения раневого покрытия бактериофагом. Наибольшую абсорбционную способность проявили коммерческие раневые покрытия, предназначенные производителем для лечения ран в фазе экссудации, — ЛикоСорб, NEOFIX FibroSorb Ag, Биатравм; среднюю способность — Хитокол-С, Aquacel Ag Extra, Нано-Асептика и Коллахит-ФА. Раневое покрытие Hydrofilm, показавшее минимальную абсорбционную способность, предназначено для использования в качестве вторичной повязки и механической защиты раны.

При изучении длительности сохранения жизнеспособности и литической активности бактериофага в составе раневых покрытий было выявлено, что

раневые покрытия Хитокол-С, Коллахит-ФА и Aquacel Ag Extra обладают собственной антибактериальной активностью в условиях *in vitro*, стабильной в течение 7 сут, причем при насыщении их бактериофагом наблюдалось увеличение зон лизиса тест-штамма. Наиболее длительную сохранность литической активности бактериофага — до 7 сут — обеспечивают раневые покрытия на основе хитозан-коллагенового комплекса — Коллахит-ФА и Хитокол-С, на основе полиуретана — Opsite Post-Op Visible, NEOFIX FibroSorb Ag, ЛикоСорб и на основе волокна Hydrofiber — Aquacel Ag Extra.

Заключение

Современные коммерческие раневые покрытия на основе хитозан-коллагенового комплекса (Хитокол-С, Коллахит-ФА), на основе полиуретана (OpSite Post-Op Visible, ЛикоСорб, NEOFIX FibroSorb Ag) и на основе волокна Hydrofiber (Aquacel Ag Extra) обладают достаточным уровнем абсорбции бактериофага, обеспечивают стабильную сохранность высокого уровня литической активности бактериофага в условиях *in vitro* — до 7 сут, т.е. в течение срока, кратного выполнению перевязки инфицированной ожоговой раны. Полученные результаты *in vitro* доказывают возможность применения этих покрытий в качестве матрицы-носителя бактериофагов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Минздрава России №056-00015-21-00 «Изучение механизмов комплексной устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам и физическим антимикробным факторам и разработка способов ее преодоления» (2021–2023)».

Конфликт интересов. Конфликта интересов между авторами и иными заинтересованными лицами нет.

Литература/References

1. Kern L., Abdeen S.K., Kolodziejczyk A.A., Elinav E. Commensal inter-bacterial interactions shaping the microbiota. *Curr Opin Microbiol* 2021; 63: 158–171, <https://doi.org/10.1016/j.mib.2021.07.011>.
2. Zhong C., Qu C., Wang B., Liang S., Zeng B. Probiotics for preventing and treating small intestinal bacterial overgrowth: a meta-analysis and systematic review of current evidence. *J Clin Gastroenterol* 2017; 51(4): 300–311, <https://doi.org/10.1097/mcg.0000000000000814>.
3. Mei L., Zhang D., Shao H., Hao Y., Zhang T., Zheng W., Ji Y., Ling P., Lu Y., Zhou Q. Injectable and self-healing probiotics-loaded hydrogel for promoting superbacteria-infected wound healing. *ACS Appl Mater Interfaces* 2022; 14(18): 20538–20550, <https://doi.org/10.1021/acsmi.1c23713>.
4. Распоряжение Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. №2045 О Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на

период до 2030 г. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71677266/>.

Rasporyazhenie Pravitel'stva RF ot 25 sentyabrya 2017 g. No.2045 "O Strategii preduprezhdeniya rasprostraneniya antimikrobnoy rezistentnosti v RF na period do 2030 g." [Order of the Government of the Russian Federation No.2045 dated 25 September 2017 "On the Strategy for Preventing the Spread of Antimicrobial Resistance in the Russian Federation for the Period until 2030"]. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71677266/>.

5. Асланов Б.И. Бактериофаги — эффективные антибактериальные средства в условиях глобальной устойчивости к антибиотикам. *Медицинский совет* 2015; 13: 106–110.

Aslanov B.I. Bacteriophages are effective antibacterial agents in the context of global antibiotic resistance. *Meditsinskiy sovet* 2015; 13: 106–110.

6. Сахаров С.П., Аксельров М.А., Фролова О.И. Анализ видового состава микроорганизмов у детей с термической травмой. *Медицинский альманах* 2019; 5–6: 94–97.

Sakharov S.P., Akselrov M.A., Frolova O.I. Analysis of microorganism types composition in children with thermal injury. *Medicinskij al'manah* 2019; 5–6: 94–97.

7. Dąbrowska K., Abedon S.T. Pharmacologically aware phage therapy: pharmacodynamic and pharmacokinetic obstacles to phage antibacterial action in animal and human bodies. *Microbiol Mol Biol Rev* 2019; 83(4): e00012–e00019, <https://doi.org/10.1128/mbr.00012-19>.

8. Abedon S. Phage therapy pharmacology: calculating phage dosing. *Adv Appl Microbiol* 2011; 77: 1–40, <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-387044-5.00001-7>.

9. Venturini C., Petrovic Fabijan A., Fajardo Lubian A., Barbirz S., Iredell J. Biological foundations of successful bacteriophage therapy. *EMBO Mol Med* 2022; 14(7): e12435, <https://doi.org/10.15252/emmm.202012435>.

10. Merabishvili M., Monserez R., van Belleghem J., Rose T., Jennes S., De Vos D., Verbeken G., Vanechoutte M., Pirnay J.P. Stability of bacteriophages in burn wound care products. *PLoS One* 2017; 12(7): e0182121, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182121>.

11. Malik D.J., Sokolov I.J., Vinner G.K., Mancuso F., Cinquerrri S., Vladisavljevic G.T., Clokie M.R.J., Garton N.J., Stapley A.G.F., Kirpichnikova A. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Adv Colloid Interface Sci* 2017; 249: 100–133, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.05.014>.

12. Pusateri A.E., McCarthy S.J., Gregory K.W., Harris R.A., Cardenas L., McManus A.T., Goodwin C.W. Jr. Effect of a chitosan-based hemostatic dressing on blood loss and survival in a model of severe venous hemorrhage and hepatic injury in swine. *J Trauma* 2003; 54(1): 177–182, <https://doi.org/10.1097/00005373-200301000-00023>.

13. Rabea E.I., Badawy M.E.T., Stevens C.V., Smagghe G., Steurbaut W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules* 2003; 4(6): 1457–1465, <https://doi.org/10.1021/bm034130m>.

14. Машель В.В., Кондратенко Г.Г., Протасевич А.И., Неверов П.С. Антимикробная активность нановолокон хитозана и его модификаций по отношению к возбудителям раневой инфекции. *Военная медицина* 2022; 3: 40–45.

Mashel' V.V., Kondratenko G.G., Protasevich A.I., Neverov P.S. Antimicrobial activity of chitosan nanovolles and its modifications towards infection pathogens. *Voennaya medicina* 2022; 3: 40–45.

15. Azad A.K., Sermsintham N., Chandkrachang S., Stevens W.F. Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2004; 69(2): 216–222, <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30000>.
16. Di Martino A., Sittinger M., Risbud M.V. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials* 2005; 26(30): 5983–5990, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.03.016>.
17. Aksungur P., Sungur A., Ünal S., İskit A.B., Squier C.A., Senel S. Chitosan delivery systems for the treatment of oral mucositis: in vitro and in vivo studies. *J Control Release* 2004; 98(2): 269–279, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.05.002>.
18. Большаков И.Н., Еремеев А.В., Черданцев Д.В., Каскаев А.В., Кириченко А.К., Власов А.А., Сапожников А.Н. Биodeградируемые раневые покрытия на основе полисахаридных полимеров в лечении обширной ожоговой травмы (клиническое исследование). *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии* 2011; 3: 56–62.
Bolshakov I.N., Yemeyev A.V., Cherdantsev D.V., Kaskayev A.V., Kirichenko A.K., Vlasov A.A., Sapozhnikov A.N. The biodegradable wound coverings on the basis of polysaccharide polymers in the treatment of extensive burn damage (clinical research). *Voprosi rekonstruktivnoy i plasticheskoy hirurgii* 2011; 3: 56–62.
19. Beschastnov V.V., Ryabkov M.G., Leontiev A.E., Tulupov A.A., Yudanov T.N., Shirokova I.Yu., Belyanina N.A., Kovalishena O.V. Viability of bacteriophages in the complex hydrogel wound dressings in vitro. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2021; 13(2): 32, <https://doi.org/10.17691/stm2021.13.2.03>.
20. Морозов А.М., Сергеев А.Н., Сергеев Н.А., Дубатов Г.А., Жуков С.В., Городничев К.И., Муравлянцева М.М., Сухарева Д.Д. Использование современных раневых покрытий в местном лечении ран различной этиологии. *Современные проблемы науки и образования* 2020; 2: 124, <https://doi.org/10.17513/spno.29705>.
21. Морозов А.М., Сергеев А.Н., Сергеев Н.А., Дубатов Г.А., Zhukov S.V., Gorodnichev K.I., Muravlyantseva M.M., Sukhareva D.D. Use of modern wound coverings in local treatment of wounds of various ethiology. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* 2020; 2: 124, <https://doi.org/10.17513/spno.29705>.
22. Chang R.Y.K., Morales S., Okamoto Y., Chan H.K. Topical application of bacteriophages for treatment of wound infections. *Transl Res* 2020; 220: 153–166, <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2020.03.010>.
23. Фармакопея РФ. ОФС 1.7.1.0002.15 Бактериофаги лечебно-профилактические. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-1-0002-15-bakteriofagi-lechebno-profilakticheskie/>.
Pharmacopoeia of the Russian Federation. OFS 1.7.1.0002.15 Bakteriophagi lechebno-profilakticheskie [OFS 1.7.1.0002.15 Therapeutic and prophylactic bacteriophages]. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-1-0002-15-bakteriofagi-lechebno-profilakticheskie/>.
24. Асланов Б.И., Зуева Л.П., Пунченко О.Е., Кафтырева Л.А., Акимкин В.Г., Долгий А.А., Брусина Е.Б. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противозидемической практике. Методические рекомендации. М; 2022; 32 с.
Aslanov B.I., Zueva L.P., Puchenko O.E., Kaftyreva L.A., Akimkin V.G., Dolgiy A.A., Brusina E.B. *Ratsional'noe primeneniye bakteriofagov v lechebnoy i protivoepidemicheskoy praktike. Metodicheskie rekomendatsii* [Rational use of bacteriophages in therapeutic and anti-epidemic practice. Guidelines]. Moscow; 2022; 32 p.