

## ВЕТЕРИНАРИЯ И ЖИВОТНОВОДСТВО

УДК 616.001.47.02:615.28 616.092.9

С.А. Лепехова, Г.Е. Григорьев,  
Е.В. Коваль, Т.В. Фадеева,  
О.А. Гольдберг, Л.В. Зарицкая, А.Г. Каргин

### РЕЗУЛЬТАТЫ РАЗРАБОТКИ МОДЕЛИ ИНФИЦИРОВАННОЙ КОЖНОЙ РАНЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СВОЙСТВ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Авторами статьи разработана модель инфицированного повреждения кожи с контролируемыми параметрами, включающими как бактериальную обсемененность раны, так глубину и площадь повреждения, которая может быть использована в хроническом эксперименте для изучения антибактериальных и биологических свойств новых препаратов. По своим характеристикам модель приближена к клиническим условиям длительно незаживающих ран.

**Ключевые слова:** модель, инфицированная рана, площадь повреждения, антибактериальные и биологические свойства, препарат.

S.A. Lepekhova, G.E. Grigoriev,  
E.V. Koval, T.V. Fadeeva,  
O.A. Goldberg, L.V. Zaritskaya, A.G. Kargin

### THE RESULTS OF THE INFECTED SKIN WOUND MODEL DEVELOPMENT TO STUDY THE NEW MEDICINAL PREPARATION PROPERTIES

The authors of the article developed the model of infected skin lesion with controlled parameters including both bacterial wound semination and the lesion depth and area that can be used in the chronic experiment for studying new preparation antibacterial and biological properties. According to its characteristics the model is closer to the clinical conditions of prolonged non-healing wounds.

**Key words:** model, infected wound, lesion area, antibacterial and biological properties, preparation.

**Введение.** При моделировании инфицированных повреждений кожи в эксперименте на животных важно высокое воспроизведение модели, приближенное к клиническим условиям заболевания [1]. В ходе работы нами были рассмотрены некоторые модели гнойных ран, представленные ранее. Известны различные способы моделирования гнойных ран. Так, известен способ моделирования инфицированной раны мягких тканей. Для этого половозрелым кроликам (массой 3–4 кг) на спину накладывают пластину, внутри которой выполнено отверстие диаметром 2,0 см. Под общим обезболиванием в отверстие вытягивают кожу в виде конуса высотой 0,9–1,1 см и его иссекают. Очаг некроза формируют наложением на рану на 3–5 с марлевого тампона, смоченного в 70 % растворе уксусной кислоты. Через 3–5 сут. некротический струп удаляют. Затем рану орошают культурой *St. aureus* в концентрации  $5 \times 10^5$  КОЕ [2].

При моделировании гнойной плоскостной мышечной раны с длительным периодом заживления по модели И.Ю. Сахарова на спинах животных иссекали участок размером 2 x 2 см. Кожные дефекты оставляли под корочкой без повязок для образования грануляционной ткани. Через трое суток корочки удаляли, дно раны надсекали лезвием, после чего в раны вносили 1 млрд микробных тел суточной культуры *St. aureus* под окклюзирующую повязку [3].

Основной задачей была разработка способа моделирования инфицированного повреждения кожи с заданным микробным пейзажем, а также с контролируемой глубиной и площадью повреждения, приближенная по своим характеристикам к клиническим условиям длительно незаживающего дефекта.

**Материалы и методы исследований.** Работа выполнена на базе научного отдела экспериментальной хирургии с виварием ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (директор чл.-корр. РАМН Е.Г. Григорьев). Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище соответственно нормативам ГОСТ «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ», (вет. удостоверение 238 №0000023 от 28 ноября 2011 г., служба ветеринарии Иркутской области) с использованием лабораторных животных крыс-самцов породы Wistar весом 200–250 г. в возрасте не менее 6 мес.

Опыты на животных выполнялись в соответствии с правилами лабораторной практики (GLP) (приказ №708н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики»); правилами гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных Приказом МЗ СССР № 742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и №48 от 23.01.85 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных», а также на основании положений Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983 и 1989 гг. Все оперативные вмешательства проводили в стерильных условиях под общим наркозом.

У всех экспериментальных крыс моделировали инфицированное повреждение кожи. Животные были разделены на две группы. В контрольной группе 1 (n=30) моделировали инфицированную рану оригинальным способом. Контрольную группу 2 составили животные, которым моделирование инфицированного повреждения кожи проводили по способу И.Ю. Сахарова (1993). Количество животных в этой группе равнялось десяти.

Отправной точкой эксперимента по суткам во всех группах было принято время инфицирования дефекта. У всех животных контрольной группы 1 и контрольной группы 2 изучали микрофлору инфицированного повреждения кожи, площадь поверхности, морфологические изменения в тканях дефекта в динамике эксперимента на 1-, 3-, 7-, 9-, 11-, 19-е сутки после внесения микст-инфекта. Измерение площади дефекта проводили взвешиванием бумажного шаблона на торсионных весах.

Данные представляли в виде медианы с нижним и верхним квартилями (25-й и 75-й процентиля). Определение значимости различий полученных данных (p) в сравниваемых выборках проведено по критериям Манна-Уитни (U), Вилкоксона (W).

**Результаты исследований и их обсуждение.** Способ моделирования инфицированного повреждения кожи включает иссечение кожного покрова, удаление струпа и введение инфекта в дефект.

Отличительными приемами предлагаемого способа являются:

- подшивание краев дефекта к подлежащим тканям после иссечения кожного покрова;
- дополнительное прошивание отдельным диагональным швом каждого угла дефекта;
- иссечение струпа и некротизированных тканей в пределах здоровых тканей;
- обработка инфицированного повреждения кожи антисептиком с последующим промыванием физиологическим раствором;
- закрытие обработанной поверхности раны полупроницаемой мембраной, концы которой вставляют под угловые диагональные швы;
- введение под полупроницаемую мембрану бактериальной взвеси, содержащей 0,5 мл *E. coli* 10<sup>9</sup> и 0,5 мл *Ps. aeruginosa* 10<sup>9</sup>.

Так, фиксация краев дефекта путем их подшивания к подлежащим тканям позволяет предупредить преждевременное стягивание краев раны, что дает возможность «стандартизировать» площадь раны независимо от индивидуальных особенностей процесса заживления у экспериментального животного, а также оценить воздействие изучаемого препарата.

Иссечение струпа и некротизированных тканей в пределах здоровых тканей обеспечивает контролируемую глубину и площадь повреждения.

Дополнительная обработка через трое суток после нанесения дефекта вызывает хроническое течение длительно незаживающей раны.

Обработка раны антисептиком после удаления некротизированных тканей позволяет исключить развитие в ране как собственной микрофлоры животного, так и микрофлоры окружающей среды. Этим приемом создаются оптимальные условия для развития микрофлоры внесенного инфекта – госпитальных штаммов *E. coli* и *Ps. aeruginosa*.

Последующее промывание физиологическим раствором позволяет исключить негативное влияние оставшегося в ране антисептика на вносимую микрофлору.

Введение и размещение в ране полупроницаемой мембраны (для мембранно-сорбирующих дренажных комплексов) предупреждает вытекание бактериальной взвеси из раны, исключает загрязнение раны в раннем послеоперационном периоде и создает оптимальные условия для развития внесенной микрофлоры.

Введение бактериальной суспензии, содержащей микробные культуры *E. coli*  $10^9$  и *Ps. aeruginosa*  $10^9$  по 0,5 мл каждой, под полупроницаемую мембрану создает оптимальные условия для развития внесенного инфекта в раннем послеоперационном периоде. Кроме этого, полупроницаемая мембрана препятствует попаданию в рану микрофлоры окружающей среды. Использование культур *E. coli* и *Ps. aeruginosa* обусловлено их распространенностью в гнойных ранах.

Клиническая картина инфицированных повреждений кожи в обеих группах животных на 1-е сутки была одинаковой. Раны характеризовались подрывными, рубцово-фибринозными краями, вялыми и тусклыми грануляциями, очагами некротических изменений.

Динамика микробной обсемененности инфицированного повреждения кожи животных контрольной группы 1 представлена в табл.1 (Lg КОЕ/см<sup>2</sup>, медиана и квартили).

Таблица 1

**Микробная контаминация инфицированного повреждения кожи в динамике исследования в контрольной группе 1**

Показатель	Сутки исследований						
	1	3	5	7	9	11	19
Lg КОЕ	7,0 <sup>□</sup> (7,0-7,0)	5,5 <sup>*</sup> (5,0-6,0)	5,0 <sup>*</sup> (4,0-5,0)	5,5 (4,0-6,0)	5,5 <sup>*</sup> (4,0-6,0)	4,0 <sup>*</sup> (3,0-5,0)	4,0 <sup>□</sup> <sup>⊕</sup> (4,0-4,0)

\* Значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с показателем в группе на 1-е сутки ( $p_w \leq 0,05$ ); <sup>□</sup> – по сравнению с показателем в группе на 3-е сутки ( $p_w \leq 0,05$ ), <sup>⊕</sup> по сравнению с показателем в группе на 5-е сутки ( $p_w \leq 0,05$ ).

У всех животных контрольной группы 1 в первые сутки была выявлена высокая микробная обсемененность инфицированного повреждения кожи ассоциацией внесенной микробной флоры с ростом более  $10^7$  КОЕ (*E. coli* + *P. aeruginosa*), с преобладанием *P. aeruginosa*. Через трое суток отмечены положительные клинические изменения, заключающиеся в отторжении части некротических очагов, в усилении роста островков здоровой грануляционной ткани. При контрольном микробиологическом исследовании уровень обсемененности оставался высоким  $10^{5-6}$  КОЕ (*E. coli* и *P. aeruginosa*), с преобладанием *P. aeruginosa*, но был существенно ниже по сравнению с первыми сутками ( $P_w = 0,007$ ).

Выявленный уровень микробной обсемененности сохранялся без изменений до 11-х суток. Существенное снижение зарегистрировано к 19-м суткам ( $P_w = 0,0002$ ).

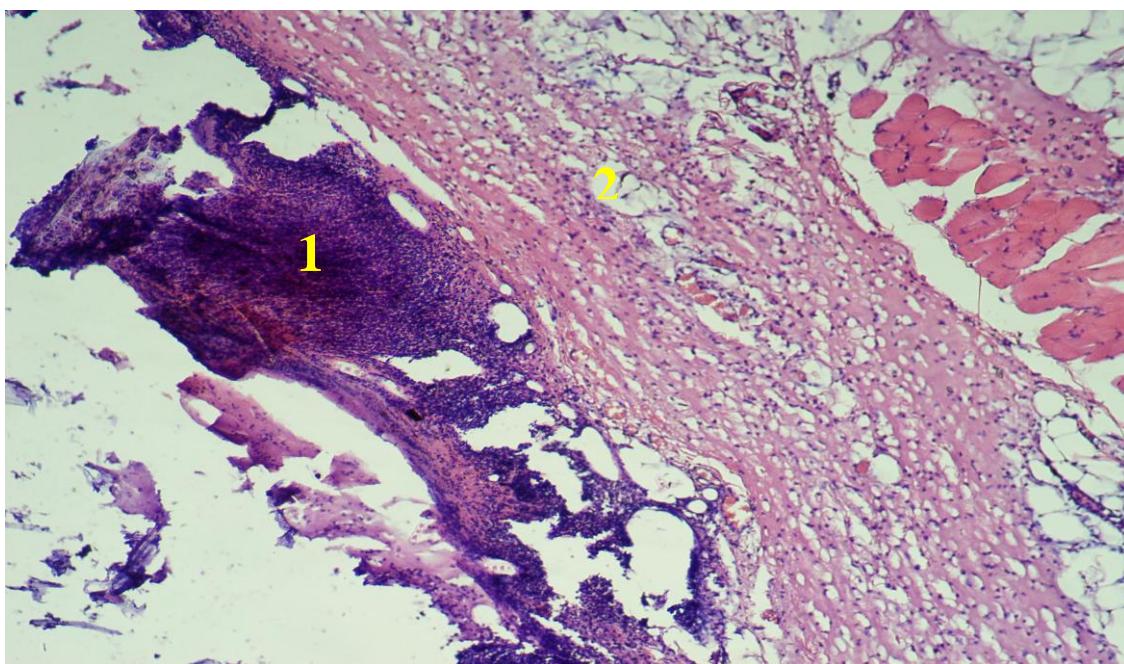
Оценку течения заживления инфицированного повреждения кожи проводили по двум критериям: по сроку начала эпителизации (в сутках) и по времени полузаживления – уменьшение площади дефекта в 2 раза (в сутках). Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

**Оценка течения заживления инфицированного повреждения кожи КГ-1**

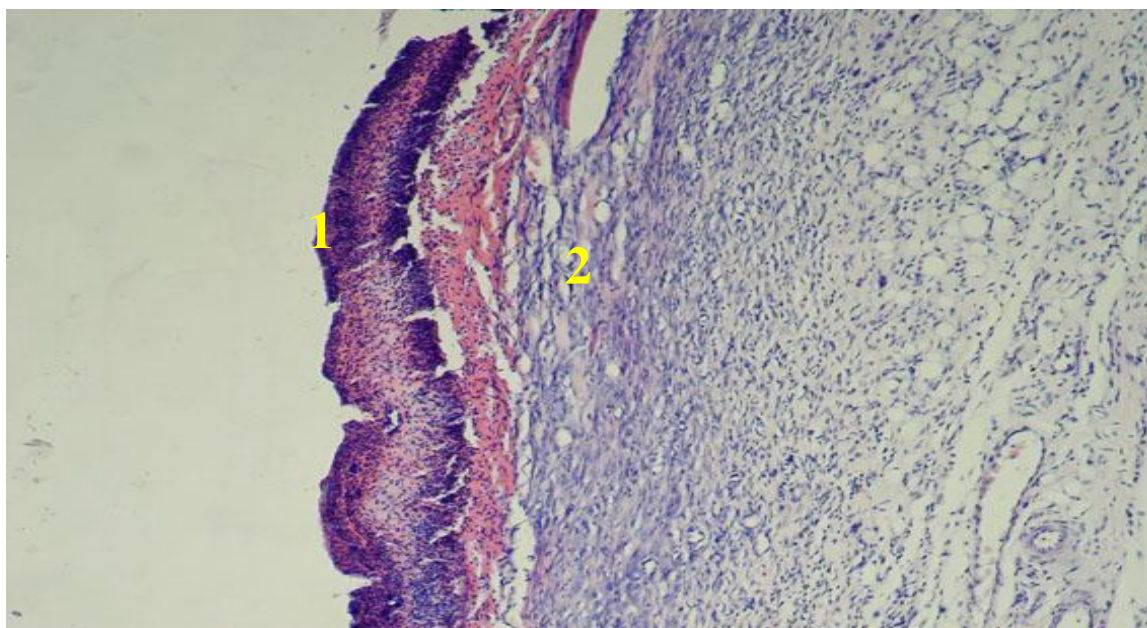
Оцененный показатель	Период времени, сут.
Сроки начала эпителизации	14,3 (14,0-15,0)
Время полузаживления (уменьшение площади в 2 раза)	13 (12-15)

При гистологическом исследовании тканей животных контрольной группы 1 в области инфицированного повреждения кожи в первые сутки выявлены поверхностно колонии микробов, некротизированная ткань, лейкоциты, детрит, фибрин (рис. 1), в подлежащей ткани – отек, плазматическое пропитывание, диффузно распределенные лейкоциты в подлежащей соединительной ткани.



*Рис. 1. Крыса. Модель инфицированного повреждения кожи КГ-1. Первые сутки после инфицирования (4-е сутки от момента нанесения дефекта): 1 – некротизированная ткань, лейкоциты, детрит, фибрин; 2 – отек, плазматическое пропитывание, диффузно распределенные лейкоциты в подлежащей соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином (Об.4х.; Ок.10х.)*

К 19-м суткам в области инфицированного повреждения кожи поверхностно расположен струп из клеточного детрита (рис. 2).



*Рис. 2. Крыса. Модель инфицированного повреждения кожи КГ-1. 19-е сутки после инфицирования ран: 1 – струп из клеточного детрита; 2 – новообразованная соединительная ткань с фибробластами и фиброцитами. Окраска гематоксилином и эозином (Об.4х.; Ок.10х.)*

Под струпом новообразованная соединительная ткань с фибробластами и фиброцитами. Инфицированное повреждение кожи поверхностное с морфологией заживления к 19-м суткам под струпом.



Динамика микробного пейзажа инфицированного повреждения кожи животных контрольной группы 2 представлена в табл. 3 (Lg КОЕ/см<sup>2</sup>, медиана и квантили).

При оценке микрофлоры инфицированного повреждения кожи контрольных животных, кроме внесенной микрофлоры (*St. aureus*), было выявлено наличие дополнительных штаммов микроорганизмов

Таблица 3

**Микробная контаминация инфицированного повреждения кожи в динамике исследования в контрольной группе 2**

Вид возбудителя	КОЕ
<i>Proteus</i>	10 <sup>5</sup>
<i>St. epidermidis</i>	5 x 10 <sup>4</sup>
<i>St. Aureus</i>	5 x 10 <sup>4</sup>
<i>Candida</i>	5 x 10 <sup>5</sup>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5 x 10 <sup>5</sup>
<i>Enterococcus faecalis</i>	5 x 10 <sup>5</sup>
<i>E. coli</i>	5 x 10 <sup>6</sup>
<i>Ps. Aeruginosa</i>	5 x 10 <sup>6</sup>

Присоединение посторонней микрофлоры затрудняет динамическое и количественное исследование микробной обсемененности инфицированного повреждения кожи внесенным штаммом.

При гистологическом исследовании тканей инфицированного повреждения кожи животных контрольной группы 2 в первые сутки поверхностно в области дефекта выявлены колонии микробов, некротизированная ткань, лейкоциты, детрит, фибрин (рис. 3).

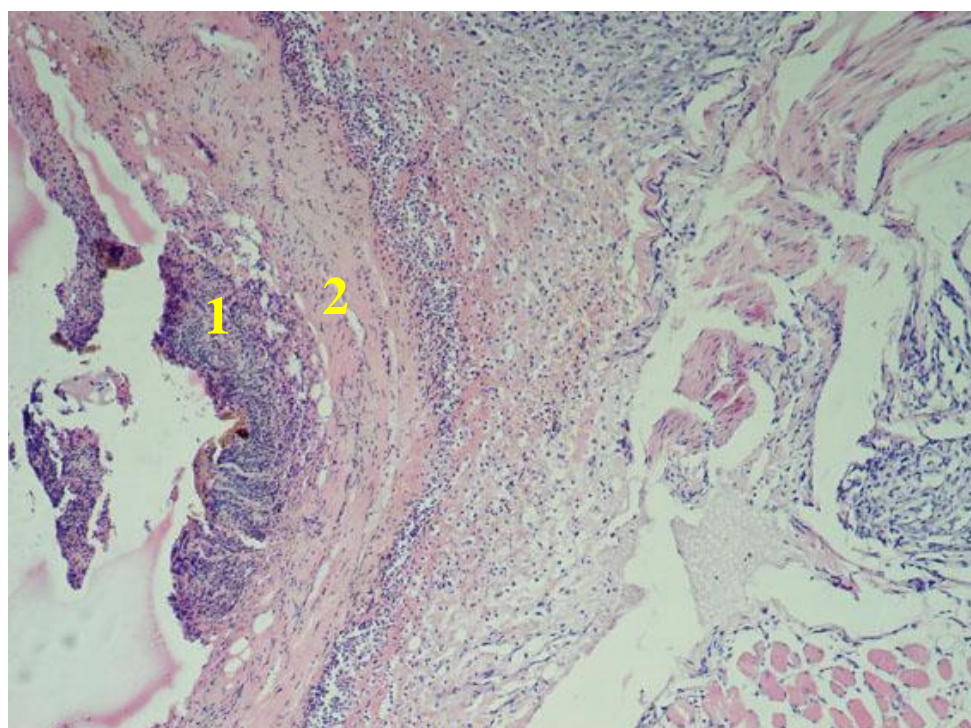


Рис. 3. Крыса. Модель инфицированного повреждения кожи КГ-3. Первые сутки после инфицирования раны (4-е сутки от момента нанесения дефекта): 1 – некротизированная ткань, лейкоциты, детрит, фибрин; 2 – поверхностная фасция. Окраска гематоксилином и эозином (Об.4х.; Ок.10х.)

Поверхностная фасция (рис. 3) с подлежащей тканью между поверхностной фасцией и прилежащими волокнами скелетной мышцы, отек, плазматическое пропитывание и умеренная лейкоцитарная инфильтрация. Рана стратифицирована, поверхностная фасция отделяет воспаление поверхностных и глубоких отделов тканей до мышечного слоя. При гистологической оценке препаратов этой

группы обнаружены микроабсцессы как поверхностные, так и в глубоких отделах тканей до мышц, в зоне насечек, нанесенных скальпелем на дно раны. Все полученные данные подтверждают невозможность контроля глубины и площади поражения при использовании способа моделирования инфицированного повреждения кожи по И.Ю. Сахарову [3]. Анализ результатов бактериологических и морфологических исследований подтвердил возможность получения модели инфицированной кожной раны с заданными параметрами, включающими как бактериальную обсемененность раны, так и глубину, и площадь повреждения.

**Заключение.** Таким образом, разработана модель инфицированного повреждения кожи с контролируемыми параметрами, включающими как бактериальную обсемененность раны, так и глубину, и площадь повреждения, которая может быть использована в хроническом эксперименте для изучения антибактериальных и биологических свойств новых препаратов. Воспроизводимость модели составляет 100 %.

#### Литература

1. Григорьев Г.Е., Ильина О.П., Лепехова С.А. Новые возможности в лечении гнойно-некротических ран у животных // Вестн. КрасГАУ. – 2009. – № 11. – С. 146–151.
2. Способ моделирования инфицированной раны мягких тканей / Ю.Г. Суховей, С.Б. Цирятьева, А.С. Минин [и др.]: пат. РФ №2321898, опубл. 10.04.2008 г., Бюл. № 1.
3. Иммуногистохимическое изучение гнойных ран у крыс после аппликации коллагеназы краба / И.Ю. Сахаров, Б.М. Шехонин, С.П. Глянцев [и др.] // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. – 1993. – № 4. – С. 267.



УДК 546.23:637

С.Д. Мункуева, С.К. Бальжинмаева, Н.А. Голубкина

#### СПЕЦИФИКА СОДЕРЖАНИЯ СЕЛЕНА В НЕКОТОРЫХ ВИДАХ МЯСНОГО СЫРЬЯ

*В статье приводятся результаты мониторинга мясного сырья из Бурятии на содержание селена и обсуждаются вопросы, связанные с видо- и тканеспецифичностью процесса аккумуляции этого антиоксиданта в биологических объектах. Исследованиями выявлена специфика накопления селена отдельными органами и тканями животных, выращенных в условиях дефицита селена в окружающей среде.*

**Ключевые слова:** селен, антиоксидант, специфика накопления, биологические объекты, мясное сырье.

S.D. Munkueva, S.K. Balzhinimaeva, N.A. Golubkina

#### SPECIFICITY OF SELENIUM CONTENT IN SOME RAW MEAT TYPES

*The results of raw meat monitoring in Buryatia on the selenium content are given and the issues related to this antioxidant species-and tissue-specific accumulation process in biological objects are discussed in the article. The specificity of selenium accumulation by particular organs and tissues of animals grown in selenium deficiency conditions in the environment is revealed by research.*

**Key words:** selenium, antioxidant, accumulation specificity, biological objects, raw meat.

---

**Введение.** Известно, что селен обладает антиоксидантными, антимутагенными и антиканцерогенными свойствами [1–2]. В этой связи особую актуальность приобретают исследования, направленные на оценку уровня поступления данного микроэлемента с основными продуктами из рациона жителей конкретного региона с учетом биогеохимических особенностей территории их проживания.

Республика Бурятия входит в состав Восточно-Сибирской биогеохимической провинции, характеризующейся недостатком селена и йода в почве [3–4]. Также Бурятия относится к числу российских регионов традиционно развитого животноводства, поэтому в силу исторических, экономических и географических особенностей в структуре рациона питания у местных жителей высока доля мяса и мясoproductов. Следовательно, для местных производителей мясной продукции будет важна информация об уровне содержания селена в исходном сырье для совершенствования технологии его переработки в целях максимального сохранения этого антиоксиданта в готовом изделии.