

ОЦЕНКА IN VITRO ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПОРФТ/PRP АЛЛОГЕННАЯ В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИЙ С МНОЖЕСТВЕННОЙ И ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К АНТИБИОТИКАМ

Савчук О.П.¹, Козлова А.И.², Карпова Е.В.², Матвеенков М.В.³, Чуешова Н.В.³, Николаев В.И.²

¹*Государственное учреждение здравоохранения «Гомельская городская клиническая больница скорой медицинской помощи», г. Гомель, Республика Беларусь*

²*Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь*

³*Государственное научное учреждение «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. Одной из наиболее значимых проблем современной медицины является раневая инфекция. В травматологии и ортопедии актуальность этого вопроса обусловлена следующими факторами: раневая инфекция нередко осложняет течение многих форм ортопедо-травматологической патологии вследствие нарушенного иммунного статуса, обусловленного как самой патологией, так и необходимостью применения препаратов иммуномодулирующего действия и стремительное формирование резистентности к антибактериальным препаратам приводит к появлению устойчивых внутрибольничных штаммов микроорганизмов, и, зачастую, при оперативной ортопедии с применением имплантатов, развивается отсроченная манифестация инфекции в области хирургического вмешательства, что значительно замедляет процесс заживления и восстановления [1, 2]. В связи с этим, актуальной задачей является разработка и внедрение новых альтернативных методов антимикробного лечения и профилактики раневой инфекции. В настоящее время растет количество работ, демонстрирующих ранозаживляющую способность плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ/PRP). Потенциальное преимущество применения ПОРФТ/PRP в терапии заболеваний костно-мышечной системы состоит в том, что данный препарат не вызывает развитие резистентности, в отличие от антибиотиков, а также способен снижать степень адгезии патогенных микроорганизмов на поверхности имплантата [3].

Цель. Оценка антимикробной активности плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов аллогенной в отношении штаммов микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью.

Материалы и методы. В своей работе мы провели оценку антимикробных свойств изделия медицинского назначения плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов «ПОРФТ/PRP аллогенной», разработанная ГУ «РНПЦ трансфузиологии и биомедицинских технологий». В качестве штаммов микроорганизмов с множественной

устойчивостью использовали штаммы *Klebsiella pneumoniae* (БК-180, БК-181, БК-170, БК-178, БК-176), *Pseudomonas aeruginosa* (БП-293, БП-295, БП-281, БП-292, БП-291) и Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA-43488, MRSA-45620, MRSA-45520, MRSA-43113, MRSA-44018).

Из суточных культур в стерильном изотоническом растворе NaCl готовили бактериальные суспензии с оптической плотностью 0,5 по МакФарланду (контроль денситометром), что соответствует концентрации $1,5 \times 10^8$ бактериальных клеток/мл. Полученную суспензию разбавляли NaCl в 1000 раз. Стерильный образец 10% раствора «ПОРФТ/PRP аллогенной», в бульоне Мюллера-Хинтона (МХБ) вносили в объеме 200 мкл в лунки стерильного плоскодонного полистиролового планшета, в каждую лунку добавляли 4 мкл разведенной бактериальной суспензии с концентрацией $1,5 \times 10^8$ бактериальных клеток/мл, соответственно, расчетная стартовая концентрация микробных клеток составила 3×10^3 бактериальных клеток/мл. За контроль принимали суспензии аналогичных штаммов без добавления «ПОРФТ/PRP аллогенной». За положительный контроль приняли антибиотико-чувствительный штамм *Staphylococcus aureus* (MSSA).

Для оценки бактерицидных свойств «ПОРФТ аллогенная» в отношении микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью проводили высев полученной суспензии микроорганизмов на чашки Петри с питательным агаром (HiMedia, Индия) для определения выживаемости бактериальных клеток. Чашки инкубировали 18-24 часа при 35°C и подсчитывали количество выросших колоний. Индекс бактерицидности (ИБ) представляли, как соотношение концентрации микробных клеток после 2-часовой инкубации (K120) к их стартовой концентрации в смеси (K0), выраженное в процентах [4].

Проводили спектрометрическую оценку суточного роста субкультивируемых бактериальных культур в объеме 100 мкл в 3 повторах для каждого штамма в 96-луночных плоскодонных полистироловых планшетах («Sarstedt»). Инкубацию и учёт результатов выполняли на микропланшетном ридере «Infinite M200», с использованием программного обеспечения «Magellan 7.2» («Tecan») в течение 24 ч при 35°C с измерением светорассеяния на длине волны 600 нм (OD 600) в лунках каждые 15 мин. Для предупреждения возможных искажений, связанных с накоплением пузырьков газа в объеме среды, каждому циклу измерения предшествовали 30-секундное орбитальное перемешивание (амплитуда 3 мм, скорость 44 об/мин) и 30-секундное отстаивание. Данные регистрировали при помощи лицензионного программного обеспечения «Magellan 7.2» («Tecan»). Аппроксимировали кинетические кривые роста модифицированным уравнением Гомпертца в программе «GraphPad Prism 8.3» («GraphPad Com»).

Результаты. Результаты показали, что в присутствии «ПОРФТ аллогенная» наблюдалось снижение скорости роста большинства исследуемых штаммов, кроме MRSA 45520, у которого установлено увеличение скорости роста на 56%. Самыми чувствительными к действию «ПОРФТ/PRP аллогенная» оказались штаммы БП 291, 283, 281 и MSSA. Влияние на максимальное количество бактериальных клеток также было значительным, снижаясь до 88% по ряду штаммов, за исключением БП 283. Модификация lag-фазы при

инкубации с «ПОРФТ аллогенная» зависела от конкретного штамма: например, у MRSA 45520 наблюдалось сокращение lag-периода на 23%, а у БП 283 и MSSA – увеличение до 1,5 раз.

При подсчете выросших колоний на питательной среде, содержащей 10% «ПОРФТ/PRP аллогенная» выявлена умеренная её бактерицидная активность в отношении ряда штаммов микроорганизмов, участвующих в исследовании, в частности, в отношении штамма MSSA, нескольких штаммов MRSA, а также определенных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* ИБ составил 72%, 64% и 51%, соответственно. Тогда как установлено уменьшение числа выросших колоний *Klebsiella pneumoniae* где индекс бактерицидности был выражен в меньшей степени и составил 24%.

Выводы. Исходя из полученных данных, можно заключить, что «ПОРФТ/PRP аллогенная» оказывает влияние на скорость роста в отношении большинства штаммов с множественной лекарственной устойчивостью. Сокращение lag-фазы и быстрый переход в стационарную фазу указывает на угнетение метаболической активности исследуемых штаммов. Полученные данные являются обоснованием применения «ПОРФТ/PRP аллогенная» в качестве антибактериального индуктора при операционном вмешательстве.

Литература

1. Распространенность и лекарственная устойчивость *Proteus spp.* в ортопедо-травматологических отделениях / С. И. Швед [и др.] // Гений ортопедии. – 2004. – №. 3. – С. 20-24.
2. Хвостов, Д. Л. Профилактика инфекционных осложнений в травматологии и ортопедии / Д. Л. Хвостов, В. В. Привольнев // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2014. – Т. 16, №. 3. – С. 168–175.
3. Microbial biofilm growth vs. tissue integration: “the race for the surface” experimentally studied / Subbiahdoss G. [et al.] // Acta biomaterialia. – 2009. – Vol. 5, №. 5. – P. 1399–1404.
4. Balouiri, M. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review / M. Balouiri, M. Sadiki, S. K. Ibnsouda // Journal of pharmaceutical analysis. – 2016. – Vol. 6, №. 2. – P. 71–79.

НАШ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ РАЗРЫВА ВРАЩАТЕЛЬНОЙ МАНЖЕТЫ ПЛЕЧА

Салиев С.М., Ирисметов М.Э.

*Республиканский специализированный научно-практический медицинский
центр травматологии и ортопедии, г. Ташкент, Республика Узбекистан*

Актуальность.

Разрыв вращательной манжеты плеча (РВМП) – одна из наиболее распространенных патологий плечевого сустава, приводящая к болевому