

ОЦЕНКА АНТИСТАФИЛОКОККОВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ ЖЕЛАТИНОВОЙ ГУБКИ, ПРОПИТАННОЙ ВАНКОМИЦИНОМ IN VITRO

<https://doi.org/10.2961/zenodo.18057746>

Нурузова З.А., Каримов М.Ю., Холмуродов У.Т.

Ташкентский Государственный Медицинский Университет

Резюме

В этом микробиологическом исследовании *in vitro* оценивалась новая пропитанная ванкомицином рассасывающаяся желатиновая гемостатическая губка, предназначенная для интраоперационной местной доставки антибиотиков. Антимикробную эффективность против MSSA и MRSA проверяли с помощью (1) анализа диффузии в дисках, сравнивая губку со стандартным диском ванкомицина в дозе 30 мкг, и (2) 14-дневной модели замедленного высвобождения с ежедневной заменой элюата и тестированием диффузии в лунках агар. Губка создавала значительно более обширные зоны ингибирования, чем стандартные ванкомициновые диски в исходном состоянии, и сохраняла заметную антибактериальную активность в течение всего 14-дневного периода, что соответствовало прогрессирующей деградации губки. Эти данные свидетельствуют о том, что желатиновая губка обладает высокой начальной антистафилококковой активностью и пролонгированным высвобождением ванкомицина, что подтверждает ее потенциал в качестве экономически эффективного местного антимикробного средства для профилактики или дополнительного лечения инфекций в местах хирургических вмешательств в ортопедии и других областях хирургии.

Ключевые слова

ванкомицин, желатиновая гемостатическая губка, метициллинрезистентный золотистый стафилококк (MRSA).

Хулоса

Бу микробиологик *in vitro* тадқиқотда интраоператив маҳаллий антибиотик етказиб бериш учун мўлжалланган янги ванкомисин сингдирилган сўрилувчи желатин гемостатик воситани баҳоланади. Микробларга қарши самарадорлик *Staphylococcus aureus* га қарши (1) дискни

диффузия таҳлили ёрдамида шимгични standart 30 µg ванкомицин диски синовлари ёрдамида синовдан ўтказилди. Шимгич стандарт ванкомицин дискларига караганда анча катта ингибиция зоналарини кўрсатди ва шимгичнинг прогрессив деградациясига мос келадиган тўлиқ 14 кун давомида ўлчанадиган антибактериал фаолликни саклаб қолди. Ушбу топилмалар шуни кўрсатадики, желатин шимгичи ортопедик ва бошқа жарроҳлик соҳаларида жарроҳлик жойидаги инфекцияларни олдини олиш ёки қўшимча даволаш учун тежамкор маҳаллий антимиқроб ташувчи сифатида потенциалини қўллаб-қувватлаб, кучли дастлабки антистафилококк фаоллигига ва ванкомициннинг узок муддатли чиқарилишига еришиши мумкин.

Калит сўзлар: ванкомицин, желатинли гемостатик шимгич, метициллинга чидамли *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Введение

Перипротезные инфекции суставов (ППИ) и глубокие инфекции в области хирургического вмешательства (ИОХВ) остаются одними из наиболее серьезных осложнений в современной ортопедической хирургии, при этом золотистый стафилококк, включая метициллинрезистентный *S. aureus* (MRSA), идентифицируется как доминирующий возбудитель в большинстве случаев [1-3]. Эти инфекции характеризуются образованием биопленок, сложными взаимодействиями хозяин-патоген и повышением устойчивости к противомикробным препаратам, что усложняет системную терапию. Несмотря на достижения в хирургической технике, системных антибиотиках и стратегиях санации, ИОХВ и ППИ по-прежнему приводят к значительным заболеваниям, финансовому бремени и риску отказа имплантатов [4-6]. Таким образом, разработка локализованных интраоперационных противомикробных стратегий стала важнейшей областью научных исследований.

Местные системы доставки антибиотиков, включая прокладки из полиметилметакрилата (ПММА), носители с сульфатом кальция, коллагеновые волокна и матрицы из хитозана или желатина, широко изучались на предмет их способности доставлять высокие концентрации лекарств непосредственно к месту операции при минимизации системной токсичности. Среди них рассасывающиеся материалы на основе желатина привлекают все большее внимание благодаря их биосовместимости, простоте в обращении, гемостатическим свойствам, полной рассасываемости и

пригодности в качестве носителей для гидрофильных антибиотиков, таких как ванкомицин [7-9]. Важно, желатиновые губки уже хорошо зарекомендовали себя в хирургии, и их модификация в качестве носителей антибиотиков представляет собой многообещающее развитие одобренной FDA платформы для производства биоматериалов.

Ванкомицин - гликопептидный антибиотик, обладающий мощной активностью в отношении чувствительных к метициллину и устойчивых к метициллину штаммов *S. золотистый* стафилококк (MSSA и MRSA-возбудители) остается краеугольным камнем терапии инфекций протезов и мягких тканей, вызываемых грамположительными микроорганизмами [8]. Однако системная доставка ванкомицина ограничена нефротоксичностью, необходимостью терапевтического мониторинга и недостаточным проникновением в ткани, не имеющие сосудов или загрязненные биопленкой. Локальная доставка ванкомицина с помощью биоразлагаемых матриц может преодолеть эти ограничения путем достижения высоких локальных концентраций, превышающих минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) для стафилококков, при сохранении безопасных системных уровней [23].

В недавних исследованиях изучались различные биоразлагаемые носители ванкомицина, включая коллагеновые губки, гидрогели, гранулы сульфата кальция и синтетические полимерные каркасы, и были получены обнадеживающие результаты как в отношении антимикробной эффективности, так и кинетики замедленного высвобождения [13, 14]. Однако данные, конкретно оценивающие желатиновые гемостатические губки, пропитанные ванкомицином, остаются ограниченными, несмотря на их благоприятные механические свойства, профиль рассасывания и широкое применение в хирургии. Кроме того, растет потребность в простых, экономичных и изготавливаемых на месте антимикробных биоматериалах, пригодных для интраоперационного применения, особенно в странах с низким и средним уровнем дохода, где современные носители могут быть дорогими или недоступными.

Учитывая этот пробел в литературе, наша исследовательская группа разработала пропитанную ванкомицином желатиновую гемостатическую губку, предназначенную как для немедленного гемостаза, так и для длительного местного высвобождения антибиотиков. Ранее была подана заявка на патент на эту инновацию, и микробиологические испытания

необходимы для подтверждения ее антимикробных свойств. В частности, необходимо ответить на два важных вопроса:

(1) Обладает ли губка, пропитанная антибиотиками, ингибирующей активностью в отношении клинически значимых патогенов, таких как MSSA и MRSA?

(2) Сохраняет ли губка длительную антимикробную активность в течение 10-14-дневного периода разложения?

Чтобы ответить на эти вопросы, мы провели исследование *in vitro*, в котором оценивали антимикробную эффективность желатиновой губки, содержащей ванкомицин, с использованием двух широко распространенных микробиологических методов: (А) тестирование диффузии диска (зоны ингибирования) по сравнению с обычными дисками с ванкомицином и (Б) анализ замедленного высвобождения, оценивающий антимикробная активность сохраняется в течение 14 дней. MSSA и MRSA были выбраны из-за их преобладающей роли в развитии ортопедических инфекций и их высокой клинической значимости.

Цель этого исследования - охарактеризовать антимикробные свойства новой желатиновой губки, пропитанной ванкомицином, сравнить ее со стандартными дисками с антибиотиками и определить, обеспечивает ли материал длительное ингибирующее действие в течение клинически значимых интервалов времени. Полученные результаты могут способствовать его дальнейшему развитию в качестве практичного и недорогого средства профилактики и лечения инфекций в ортопедической и общехирургической практике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

В этом экспериментальном исследовании *in vitro* оценивалась антимикробная активность и характеристики замедленного высвобождения антибиотиков желатиновой гемостатической губки, пропитанной ванкомицином, разработанной для интраоперационного использования. Исследование состояло из двух основных компонентов:

1. Оценка антимикробной активности с использованием метода дисковой диффузии (зоны ингибирования), сравнивающего губку со стандартными дисками для ванкомициновых антибиотиков.

2. Анализ высвобождения в зависимости от времени, позволяющий оценить ежедневную антимикробную активность в течение 14-дневного периода разложения.

Все эксперименты проводились в отделении микробиологии в соответствии с рекомендациями CLSI (Института клинических и лабораторных стандартов) по тестированию чувствительности к противомикробным препаратам.

1. Приготовление желатиновой губки, пропитанной ванкомицином

1.1 Материал основы

В качестве матрицы-носителя использовали коммерческие стерильные желатиновые гемостатические губки (фармацевтического качества, рассасывающиеся, с пористой структурой). Размеры каждой губки были стандартизированы:

- 2 см × 2 см × 1 см
- Средняя масса: 0,45 ± 0,02 г

1.2 Загрузка антибиотика

На основе ранее запатентованной рецептуры и хирургического применения каждая губка была пропитана:

- 1 г ванкомицина гидрохлорида разводили в 10 мл стерильной воды
- Полученная концентрация: 100 мг/мл

Губки погружали в раствор антибиотика на 15 минут, обеспечивая насыщение пористой желатиновой матрицы. После пропитки губки высушивали в стерильном ламинарном режиме в течение 60 минут при комнатной температуре.

1.3 Стерилизация

Во избежание термической деструкции ванкомицина:

- Губки были стерилизованы с помощью гамма-облучения (25 кГр), которое сохраняет целостность желатина и активность антибиотиков.

Готовые губки хранили при температуре 4°C в стерильной герметичной упаковке до использования.

2. Микроорганизмы и условия культивирования

2.1 Штаммы бактерий

В исследовании оценивались два клинически значимых патогена:

- Чувствительный к метициллину золотистый стафилококк (MSSA) – ATCC 29213
- Метициллинрезистентный золотистый стафилококк (MRSA) – ATCC 43300

Эти штаммы широко используются в качестве эталонных микроорганизмов при тестировании на противомикробные препараты и

являются доминирующими патогенами при инфекциях протезов и хирургических вмешательств.

2.2 Подготовка культуры

Каждый штамм культивировали на чашках с кровяным агаром в течение 24 часов при температуре 37°C. Затем готовили бактериальную суспензию в стерильном физиологическом растворе, чтобы она соответствовала стандарту 0,5 Макфарланда ($\sim 1,5 \times 10$ КОЕ/мл), и проверяли с помощью оптической денситометрии.

Этот стандартный посевной материал использовали для всех анализов.

3. Анализ диффузии в виде диска (зоны ингибирования)

3.1 Приготовление агаровых чашек

- Чашки с агаром Мюллера–Хинтона (МНА) готовили в соответствии с рекомендациями CLSI.

- Перед посевом каждой чашке давали высохнуть при комнатной температуре в течение 15 минут.

3.2 Инокуляция

Чашки были равномерно посеяны стерильным тампоном, смоченным в стандартизированной суспензии MSSA или MRSA, что обеспечивало полный рост газона.

3.3 Размещение тестируемых материалов

На каждую чашку были помещены три источника антимикробных препаратов:

1. Желатиновая губка, пропитанная ванкомицином (тестовая группа)
2. Стандартный диск с антибиотиком ванкомицином по 30 мкг (положительный контроль)
3. Чистая желатиновая губка без антибиотика (отрицательный контроль)

Каждый материал размещали на равном расстоянии друг от друга, чтобы избежать перекрытия зон ингибирования.

3.4 Инкубация

Чашки инкубировали при температуре 37°C в течение 24 часов.

3.5 Измерение антимикробной активности

После инкубации с помощью штангенциркуля измеряли зоны ингибирования роста (ЗИР):

- Диаметр в миллиметрах, включая диск/губку.
- Каждое условие было протестировано в трех экземплярах ($n = 3$) как на MSSA, так и на MRSA-возбудителей.

Результаты ЗИР были количественно сопоставлены со стандартным диском с ванкомицином.

4. *Антимикробная активность с замедленным высвобождением (14-дневное тестирование)*

4.1 Приготовление среды для высвобождения

Стерильные стеклянные контейнеры были заполнены:

- 10 мл физиологического раствора с фосфатным буфером (ФБ), pH 7,4
- В каждый контейнер была помещена одна губка с ванкомицином.

4.2 Ежедневный сбор элюата

С 24-часовыми интервалами в течение 14 дней подряд:

- Весь объем ФБ удаляли (образец элюата).
- Его немедленно заменяли свежим стерильным ФБ для продолжения элюирования.

• Образцы элюата хранили при температуре 4°C и тестировали в течение 12 часов.

4.3 Тестирование ежедневных элюатов на антимикробные свойства

Каждый ежедневный элюат тестировали на антимикробную активность, используя метод луночной диффузии:

1. Планшеты с МНА были инокулированы MSSA или MRSA, как описано ранее.

2. В каждой планшете была вырезана лунка диаметром 6 мм.

3. В лунку набирали пипеткой 100 мкл элюата.

4. Чашки инкубировали при 37°C в течение 24 часов.

5. Измеряли зоны ингибирования.

Этот метод позволил определить количество активного ванкомицина, высвобождающегося из губки с течением времени.

4.4 Оценка степени разложения

Ежедневно проводился визуальный осмотр желатиновой губки с указанием:

- Структурной целостности
- Степени фрагментации
- Характеристики всасывания

Полная деградация ожидалась между 10-м и 14-м днем, что соответствовало профилю рассасывания желатина.

5. *Регистрация данных и контроль качества*

- Все анализы проводились в трех экземплярах.
- Во всех случаях соблюдались протоколы контроля качества CLSI.

- Регистрировались температура, номера партий питательных сред и время инкубации.
- Ежедневно проводился контроль стерильности (неинвазивные чашки).
- Отрицательный и положительный контрольные показатели были повторены для проверки точности.

6. Статистический анализ

Количественные данные (диаметр зон ингибирования) были записаны как:

- Среднее значение \pm стандартное отклонение для каждого дня и каждого организма.

Сравнение между губкой с антибиотиком и стандартными ванкомициновыми дисками было проведено с использованием:

- t-критерия для независимых образцов (для сравнения с исходным уровнем ЗИР)
- ANOVA с повторными измерениями (для определения кинетики высвобождения через 14 дней)

Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Статистический анализ проводился с использованием SPSS версии 26.0.

результаты

1. Антимикробная активность: Анализ на дисковую диффузию

1.1 Базовые зоны ингибирования

Пропитанная ванкомицином желатиновая губка продемонстрировала сильную антибактериальную активность как в отношении MSSA, так и MRSA в анализе на дисковую диффузию. После 24 часов инкубации вокруг губки наблюдались четкие и четко очерченные зоны ингибирования. Антимикробная активность не была обнаружена вокруг губки с чистым желатином (отрицательный контроль).

В отношении MSSA губка с антибиотиком создавала среднюю зону ингибирования, равную $28,3 \pm 1,2$ мм, что было значительно больше, чем при использовании стандартного диска с ванкомицином в дозе 30 мкг (средний ЗИР $19,7 \pm 0,8$ мм, $p < 0,001$).

В отношении MRSA губка генерировала среднее значение ЗИР, равное $26,8 \pm 1,3$ мм, что снова превышало стандартный диск ($18,9 \pm 0,9$ мм, $p < 0,001$).

Большие зоны ингибирования указывают на то, что губка обеспечивает более высокую начальную локальную концентрацию ванкомицина, чем антибиотик в виде диска с фиксированной дозой, что соответствует начальной дозе в 1 г.

Таблица 1. Исходная антимикробная активность (дисковая диффузия ЗИР через 24 часа)

Тестовый материал	MSSA (мм), среднее \pm SD	MRSA (мм), среднее \pm SD
Ванкомицин-импрегнированная желатиновая губка	28,3 \pm 1,2	26,8 \pm 1,3
Стандартный диск с ванкомицином (30 мкг)	19,7 \pm 0,8	18,9 \pm 0,9
Чистая желатиновая губка (отрицательный контроль)	0	0

Статистическое сравнение (губка и диск): $p < 0,001$ как для MSSA, так и для MRSA-возбудителя.

Эти результаты подтверждают, что губка обеспечивает значительно более высокий антимикробный эффект, чем стандартный диск, в течение первых 24 часов.

2. Активность замедленного высвобождения: анализ элюции за 14 дней

2.1 Профиль суточного высвобождения

Антимикробная активность элюатов, собранных ежедневно в течение 14 дней, показала, что губка сохраняет длительное и терапевтически значимое высвобождение ванкомицина.

- 1-5-й дни: Наблюдалась сильная и устойчивая антибактериальная активность с широкими зонами ингибирования для обоих организмов, что указывает на значительное высвобождение антибиотика.

- 6-10-й дни: Было отмечено постепенное уменьшение диаметра ЗИР, что отражает замедление кинетики высвобождения по мере истощения запасов ванкомицина.

- Дни 11-14: Губка продолжала образовывать измеримые зоны ингибирования, подтверждающие длительное высвобождение в течение всего периода разложения.

- К 14-му дню активность была снижена, но все еще определялась (MSSA: 8,2 \pm 0,6 мм; MRSA: 7,4 \pm 0,5 мм), что указывает на остаточную антимикробную функцию даже на поздних стадиях деградации матрикса.

Эти результаты подтверждают, что желатиновая губка эффективно поддерживает локальную доставку ванкомицина в течение критических 10-14 дней после операции.

2.2 Сравнение между организмами

Показатель ЗИР для MSSA во все дни был на 0,5–1,2 мм больше, чем для MRSA, что отражает незначительно более высокую исходную чувствительность MSSA к ванкомицину. Эта закономерность согласуется с опубликованными различиями в показателях MIC между штаммами.

Однако общая тенденция высвобождения, наклон снижения и продолжительность активности были очень схожими для обоих организмов, демонстрируя:

- Хорошая диффузия ванкомицина через агаровую матрицу
- Сопоставимая сохраняемая активность в отношении MSSA и MRSA-возбудителей
- Стабильность ванкомицина при хранении внутри желатиновой матрицы и в процессе элюирования

3. Характеристики разложения губки

Желатиновая губка подвергалась предсказуемому и прогрессирующему разложению в течение 14-дневного периода высвобождения:

- 1-3-й день: Губка сохраняла структурную целостность и объем.
- 4-7-й день: Заметное размягчение и эрозия поверхности
- 8-10-й день: Частичная фрагментация и уменьшение толщины
- 11-14-й день: Прогрессирующая деградация с потерей первоначальной массы на 60-90%.

Примечательно, что антимикробная активность сохранялась даже при существенном разрушении матрицы, что подтверждает тот факт, что разрушение не повлияло на высвобождение антибиотика.

4. Количественные данные по элюированию

Таблица 2. Суточные зоны ингибирования (мм), полученные с помощью элюатов из ванкомицин-желатиновой губки (исследование 14-дневного высвобождения)

Day	MSSA (mm) Средний ±	MRSA (mm) Средний ± SD
1	26.1 ± 1.0	24.8 ± 1.1
2	24.3 ± 0.9	23.5 ± 1.0
3	22.7 ± 1.1	21.9 ± 1.0
4	21.2 ± 1.0	20.3 ± 0.9
5	19.8 ± 0.8	18.7 ± 0.8
6	17.9 ± 0.7	16.8 ± 0.7
7	16.3 ± 0.8	15.4 ± 0.8
8	14.7 ± 0.7	13.8 ± 0.6
9	12.9 ± 0.6	12.1 ± 0.5

10	11.4 ± 0.6	10.7 ± 0.6
11	10.1 ± 0.5	9.6 ± 0.5
12	9.3 ± 0.5	8.8 ± 0.4
13	8.7 ± 0.6	8.0 ± 0.4
14	8.2 ± 0.6	7.4 ± 0.5

Эта таблица демонстрирует:

- Постоянную антимикробную активность в течение всех 14 дней
- Естественное снижение уровня ЗИР, которое коррелирует с истощением запасов антибиотиков
- Сохранение биологической активности даже на поздних стадиях разложения

5. Статистический анализ

5.1 Сравнение исходного уровня (1-й день - диффузия диска)

Ванкомициновая губка и стандартный диск:

- MSSA: $p < 0,001$
- MRSA: $p < 0,001$

5.2 Замедленное высвобождение (Повторные измерения ANOVA)

Через 14 дней:

- MSSA: $F = 128,4$, $p < 0,001$
- MRSA: $F = 139,1$, $p < 0,001$

Что указывает на статистически значимое снижение со временем, как и ожидалось.

Отсутствие существенного эффекта взаимодействия между двумя организмами ($p > 0,05$), что подтверждает согласованную кинетику высвобождения.

Обсуждение

Настоящее исследование демонстрирует, что пропитанная ванкомицином желатиновая гемостатическая губка, разработанная нашей группой, обладает мощной и устойчивой антимикробной активностью как против чувствительного к метициллину золотистого стафилококка (MSSA), так и против метициллинрезистентного *S. aureus* (MRSA). Эти результаты имеют важное значение для профилактики инфекций в месте хирургического вмешательства и протезирования суставов, поскольку золотистый стафилококк, в частности MRSA, является основной причиной глубоких послеоперационных инфекций во всем мире [1, 15]. Способность простой, недорогой, биоразлагаемой желатиновой матрицы доставлять высокие концентрации ванкомицина в течение 14 дней подчеркивает ее

потенциал как эффективной системы локальной доставки противомикробных препаратов.

Сравнение с существующими местными носителями антибиотиков

В ортопедической и хирургической литературе описаны различные средства доставки антибиотиков, в том числе полиметилметакрилатный цемент (ПММА), сульфат кальция, коллагеновые губки, гидрогелевые композиты и синтетические полимерные носители. У каждой системы есть свои преимущества и ограничения.

Цемент ПММА

ПММА остается наиболее широко используемым местным материалом-носителем, особенно при ревизионном эндопротезировании. Однако кинетика элюирования ПММА является неоптимальной и характеризуется кратковременным первоначальным всплеском, за которым следует длительный период незначительного высвобождения [3, 4, 16]. Важно отметить, что ПММА не рассасывается и может потребовать хирургического удаления, а процесс экзотермической полимеризации может привести к разрушению чувствительных к нагреванию антибиотиков, включая ванкомицин [5]. В отличие от этого, наша желатиновая губка полностью биоразлагаема, не подвергается термическому разложению и не требует вторичного хирургического вмешательства.

Сульфат кальция

Гранулы сульфата кальция обеспечивают местную концентрацию антибиотиков в высоких концентрациях и полностью разлагаются, но имеют хорошо документированные осложнения, включая постоянное дренирование раны, серозный выпот и гиперкальциемию [17]. Профиль их элюирования также сильно зависит от размера гранул и метода смешивания, что приводит к противоречивым клиническим результатам [18]. Однако известно, что желатин предсказуемо разлагается в течение 10-14 дней, и модель замедленного высвобождения, продемонстрированная в нашем исследовании, точно соответствует этому сроку.

Коллагеновые губки

Коллагеновые салфетки, пропитанные гентамицином (например, Collatamp®), имеют убедительные доказательства в пользу их использования в профилактике ИОХВ [19]. Однако они дороги, доступны не всем и в основном содержат только гентамицин. Желатиновые губки, напротив, недороги, легко доступны и способны впитывать широкий спектр гидрофильных антибиотиков, таких как ванкомицин [20].

Современные полимерные системы

Гидрогели, PLGA-композиты, хитозановые каркасы и другие платформы с контролируемым высвобождением обеспечивают элегантную кинетику высвобождения и высокую способность вводить лекарственные вещества [21]. Однако их стоимость, сложность производства и нормативные барьеры часто ограничивают их внедрение, особенно в хирургических системах с низким и средним уровнем дохода. Желатиновые губки, использованные в этом исследовании, напротив, могут быть массово изготовлены по низкой цене, стерилизованы гамма-облучением и использованы во время операции без затрат времени на подготовку.

В совокупности эти сравнения подчеркивают уникальные преимущества желатиново-ванкомициновой губки: способность к биологическому разложению, биосовместимость, низкую стоимость, технологичность и высокие антимикробные свойства.

Антимикробная активность в отношении MSSA и MRSA-возбудителей

Губка продемонстрировала значительно большие зоны ингибирования по сравнению со стандартным диском с ванкомицином, содержащим 30 мкг ванкомицина. Это ожидаемо из-за высокой концентрации антибиотика (1 г), но важным наблюдением является сохранение активности в течение 14 дней.

Инфекции, вызванные MRSA, по-прежнему трудно поддаются лечению из-за развивающейся резистентности, утолщения клеточных стенок и образования биопленки [22]. Способность губки сохранять ингибирующую активность в отношении MRSA в течение 14 дней позволяет предположить, что ванкомицин оставался эффективным, несмотря на хранение в желатиновой матрице и прогрессирующее гидролитическое разложение.

Небольшая, но устойчивая разница в размерах зон между MSSA и MRSA коррелирует с установленными различиями в минимальных ингибирующих концентрациях (MICS) [23]. Тем не менее, тот факт, что оба микроорганизма оставались чувствительными к элюатам на протяжении всего периода тестирования, подтверждает актуальность губки для борьбы с клинически доминирующими патогенами.

Профиль замедленного высвобождения и значимость биопленки

Образование биопленки является основным препятствием при ортопедических инфекциях. Раннее образование биопленки начинается в течение 6-8 часов после бактериальной инокуляции и созревает в течение 48-72 часов, делая бактерии в 1000 раз более устойчивыми к антибиотикам [24].

Это подчеркивает необходимость применения высоких местных концентраций антибиотиков на раннем послеоперационном этапе.

Полученные нами данные о замедленном высвобождении являются клинически значимыми по трем причинам:

1. Высокие концентрации на ранних стадиях (1-5-й дни) совпадают с наибольшим риском бактериальной адгезии.

2. Устойчивое снижение в период с 6 по 10 день соответствует созреванию микроколоний, когда проникновение антибиотика имеет решающее значение.

3. Остаточная активность в течение 14-го дня соответствует периоду полного биodeградации желатиновых губок, обеспечивая постоянную защиту во время заживления ран.

Кроме того, синхронизированный характер деградации матрикса и элюции антибиотиков позволяет предположить, что желатин действует как носитель с контролируемой эрозией, что согласуется с предыдущими исследованиями биоразлагаемых систем доставки лекарств на основе коллагена и желатина [25].

Преимущества желатина как биоматериала

Желатин получают путем гидролиза коллагена и обладает рядом биологически полезных свойств: Желатин давно используется в хирургии в качестве кровоостанавливающего средства, демонстрируя отличную переносимость и минимальную воспалительную реакцию [26]. Губка не только оказывает местное антибактериальное действие, но и поддерживает гемостатический эффект – сочетание, которое особенно ценно при ортопедических процедурах, связанных с костными поверхностями [27]. Система пор улучшает как всасывание, так и высвобождение гидрофильных антибиотиков. Желатин ферментативно расщепляется протеазами *in vivo*, как правило, в течение 10-14 дней. Это соответствует периоду послеоперационного периода, в течение которого профилактика инфекций наиболее важна. В отличие от современных синтетических полимеров или запатентованных коллагеновых продуктов, желатин недорогой, его легко стерилизовать и он широко доступен, что является ключевым фактором для использования в развивающихся системах здравоохранения.

Клиническое значение

Результаты этого исследования подтверждают несколько потенциальных клинических применений:

- Ортопедическая операция по замене суставов (накладка на протезное ложе или оболочку из мягких тканей)
- Лечение открытых переломов
- Хирургия позвоночника, особенно у пациентов с сопутствующими заболеваниями
- Общая хирургия (ушивание брюшной стенки с высокой степенью риска или установка сетки)
- Покрытие сосудистыми трансплантатами
- Онкологическая реконструкция при высоком риске образования мертвого пространства и контаминации

Низкая стоимость и рассасывающийся характер губки делают ее особенно подходящей для развивающихся регионов, включая Центральную Азию, где высока частота послеоперационных инфекций, а лечение носителями в преклонном возрасте может быть непомерно дорогим [28].

Заключение

Это исследование *in vitro* демонстрирует, что пропитанная ванкомицином желатиновая гемостатическая губка, разработанная нашей группой, обладает сильной, устойчивой антимикробной активностью как в отношении MSSA, так и против MRSA - двух наиболее важных с клинической точки зрения патогенов при послеоперационных и ортопедических инфекциях. Зоны ингибирования на губке были значительно больше, чем на стандартных дисках с антибиотиком ванкомицином, и сохраняли заметную антибактериальную активность в течение 14 дней подряд, что соответствует периоду полного биodeградации желатиновой матрицы. Эти данные свидетельствуют о том, что губка обеспечивает терапевтически значимые концентрации ванкомицина в течение критического периода раннего послеоперационного периода, когда наиболее вероятны бактериальная адгезия, колонизация и образование биопленки.

Сочетание биосовместимости, предсказуемой биodeградации, гемостатических свойств и низкой стоимости изготовления делает желатиновую губку многообещающим кандидатом для внедрения в клиническую практику. По сравнению с существующими местными системами доставки антибиотиков, такими как ПММА, сульфат кальция, коллагеновые волокна и передовые полимеры, эта губка предлагает уникальное сочетание доступности, простоты и эффективности – характеристики, которые особенно актуальны для систем здравоохранения с ограниченным доступом к дорогостоящим биоматериалам.

Хотя полученные результаты обеспечивают прочную основу для дальнейшего развития, дополнительные эксперименты *in vivo*, оценка механических свойств и гемостаза, а также клинические пилотные исследования будут иметь решающее значение для подтверждения безопасности, фармакокинетики и клинической эффективности. Тем не менее, настоящее исследование убедительно доказывает, что желатиновая губка, содержащая ванкомицин, может функционировать как эффективная система местной доставки антибиотиков с потенциальным применением в ортопедии, травматологии, лечении позвоночника, общей хирургии и сосудистых процедурах.

Таким образом, эта новая антимикробная губка на основе желатина представляет собой практичную, эффективную и масштабируемую стратегию для улучшения профилактики инфекций и дополнительного лечения в хирургической практике, обладающую значительным потенциалом для снижения бремени ППИ, особенно в условиях ограниченных ресурсов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Zimmerli W., Trampuz A., Ochsner P. E. Prosthetic-Joint Infections // *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society, 2004. Т. 351, № 16. С. 351.
2. Tande A. J., Patel R. Prosthetic joint infection // *Clin Microbiol Rev*. American Society for Microbiology, 2014. Т. 27, № 2. С. 302–345.
3. Lora-Tamayo J. и др. A Large Multicenter Study of Methicillin-Susceptible and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Prosthetic Joint Infections Managed With Implant Retention // *Clinical Infectious Diseases*. Oxford Academic, 2013. Т. 56, № 2. С. 182–194.
4. Gogia J. S. и др. Local Antibiotic Therapy in Osteomyelitis // *Semin Plast Surg*. © Thieme Medical Publishers, 2009. Т. 23, № 02. С. 100–107.
5. Thomas M. V., Puleo D. A. Calcium sulfate: Properties and clinical applications // *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. John Wiley & Sons, Ltd, 2009. Т. 88, № 2. С. 597–610.
6. McLaren A. C. Alternative materials to acrylic bone cement for delivery of depot antibiotics in orthopaedic infections // *Clin Orthop Relat Res*. Lippincott Williams and Wilkins, 2004. Т. 427. С. 101–106.

7. Howden B. P. и др. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: Resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications // *Clin Microbiol Rev.* American Society for Microbiology, 2010. Т. 23, № 1. С. 99–139.
8. Rybak M. J. и др. Therapeutic monitoring of vancomycin in adults: Summary of consensus recommendations from the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists // *Pharmacotherapy.* John Wiley & Sons, Ltd, 2009. Т. 29, № 11. С. 1275–1279.
9. Liu C. и др. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in Adults and Children // *Clinical Infectious Diseases.* Oxford Academic, 2011. Т. 52, № 3. С. e18–e55.
10. Koshy S. T. и др. Click-Crosslinked Injectable Gelatin Hydrogels // *Adv Healthc Mater.* Wiley-VCH Verlag, 2016. Т. 5, № 5. С. 541.
11. Kollef M. H. Limitations of Vancomycin in the Management of Resistant Staphylococcal Infections // *Clinical Infectious Diseases.* Oxford Academic, 2007. Т. 45, № Supplement_3. С. S191–S195.
12. Stein G. E., Wells E. M. The importance of tissue penetration in achieving successful antimicrobial treatment of nosocomial pneumonia and complicated skin and soft-tissue infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Vancomycin and linezolid // *Curr Med Res Opin.* Taylor & Francis, 2010. Т. 26, № 3. С. 571–588.
13. Kim K. J. и др. Clinical Efficacy of the Antibiotic-Loaded Collagen Sponge During Arthroscopic Treatment of Acute Septic Arthritis of the Native Knee // *Orthop J Sports Med.* SAGE Publications Ltd, 2022. Т. 10, № 4.
14. Van Vugt T. A. G. и др. Antibiotic-Loaded Collagen Sponges in Clinical Treatment of Chronic Osteomyelitis: A Systematic Review // *Journal of Bone and Joint Surgery - American Volume.* Lippincott Williams and Wilkins, 2018. Т. 100, № 24. С. 2153–2161.
15. Tande A. J., Patel R. Prosthetic joint infection // *Clin Microbiol Rev.* *Clin Microbiol Rev*, 2014. Т. 27, № 2. С. 302–345.
16. McLaren A. C. Alternative Materials to Acrylic Bone Cement for Delivery of Depot Antibiotics in Orthopaedic Infections. 2004.
17. Michael Anthony Harris by, Engineering B. INORGANIC MATERIALS FOR LOCAL DRUG DELIVERY. 2020.

18. Howlin R. P. и др. Antibiotic-loaded synthetic calcium sulfate beads for prevention of bacterial colonization and biofilm formation in periprosthetic infections // *Antimicrob Agents Chemother.* American Society for Microbiology, 2015. Т. 59, № 1. С. 111–120.
19. Konstantelias A. A., Polyzos K. A., Falagas M. E. Gentamicin-Collagen Sponges for the Prevention of Surgical Site Infections: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials // <https://home.liebertpub.com/sur>. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA , 2016. Т. 17, № 5. С. 601–609.
20. Sherafati Chaleshtori A. и др. Gelatin-based nanoparticles and antibiotics: a new therapeutic approach for osteomyelitis? // *Front Mol Biosci.* Frontiers Media SA, 2024. Т. 11. С. 1412325.
21. Musuc A. M. и др. Development and Applications of PLGA Hydrogels for Sustained Delivery of Therapeutic Agents // *Gels* 2024, Vol. 10, Page 497. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2024. Т. 10, № 8. С. 497.
22. Craft K. M. и др. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype // *Medchemcomm.* The Royal Society of Chemistry, 2019. Т. 10, № 8. С. 1231–1241.
23. Bou G. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Analysis and Susceptibility Testing of MRSA. Humana Press, 2007. С. 29–49.
24. Dhillon M. S. и др. Biofilms – What Should the Orthopedic Surgeon know? // *Indian J Orthop.* Springer, 2022. Т. 57, № 1. С. 44.
25. Santoro M., Tataro A. M., Mikos A. G. GELATIN CARRIERS FOR DRUG AND CELL DELIVERY IN TISSUE ENGINEERING // *J Control Release.* Elsevier B.V., 2014. Т. 0. С. 210.
26. Shaeer O. и др. Application of gelatin sponge (Gelfoam®) as a hemostatic agent in inflatable penile prosthesis implantation // *International Journal of Impotence Research* 2025. Nature Publishing Group, 2025. С. 1–4.
27. Al-Mofty S. E. D. и др. Multifunctional Hemostatic PVA/Chitosan Sponges Loaded with Hydroxyapatite and Ciprofloxacin // *ACS Omega.* American Chemical Society, 2022. Т. 7, № 15. С. 13210–13220.
28. Sartelli M. и др. The management of intra-abdominal infections from a global perspective: 2017 WSES guidelines for management of intra-abdominal infections // *World J Emerg Surg.* BioMed Central Ltd., 2017. Т. 12, № 1. С. 29.