

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОЗОНИРОВАННОГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА В ЛЕЧЕНИИ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО ОСТЕОМИЕЛИТА

Доценко И.А. Чертков А.К. Голубева Л.А.

Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии – филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург

BENEFITS OZONIZED PHYSIOLOGICAL SOLUTION USAGE IN THE TREATMENT OF TUBERCULOUS OSTEOMYELITIS

Dotsenko I. A. Chertkov of A. K. Golubev L. A.

Ural Research Institute for Phthisiopulmonology, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract: The prevalence of tuberculosis osteomyelitis is extremely high and ranges from 40% to 65% of cases of purulent-inflammatory diseases of bones and joints affected with tuberculosis. There is information about the severity of bactericidal action of ozonized physiological solution on the affected and healthy tissue foci of osteomyelitis. In article above we described our attempts and methods to solve problem.

Key words: tuberculosis spondylitis, ozonized physiological solution

Введение:

Туберкулезный спондилит и неспецифический (гематогенный) остеомиелит наиболее часто встречаемые поражения среди воспалительных заболеваний позвоночника. В настоящее время неспецифический спондилит составляет от 1,5% до 8% всех случаев воспалительных заболеваний костей и суставов. В

структуре костно-суставного туберкулеза среди всех сегментов опорно-двигательного аппарата поражения позвоночника встречаются в 40 - 61,5 % случаев. От 16,7% до 80% больных туберкулезным спондилитом имеют различной выраженности спинномозговые расстройства с частотой развития от 10 до 64 % с компрессией спинного мозга, его сосудов и корешков [5,8]

Несмотря на значительные успехи в лечении, достигнутые в последние годы, туберкулезный спондилит продолжает оставаться одной из наиболее сложных проблем хирургии.

Сегодня применяют хирургические и консервативные способы лечения и профилактики туберкулезного спондилита. Например, фотодинамическая терапия гнойных ран [3], комплексное использование озона и повиаргола [1,2], широкое вскрытие абсцессов с дренированием и обеспечением оттока гноя и т.д., но упорное течение воспалительного процесса в костном мозге заставляет искать новые способы лечения и профилактики туберкулезного спондилита[6,8].

Как итог, проблема состоит в том, что процент осложнений после хирургического вмешательства в виде туберкулезного спондилита. Процент осложнений самого остеомиелита и процент рецидивов туберкулезного остается на высоком уровне, по данным анализа историй болезней ОКСТ ФГБУ УНИИФ за 2011-2014 гг. достигающем 15,7-23.2 %.

На сегодняшний день практикующие врачи используют различные методы санации гнойных очагов при остеомиелите (механический, физический, химический, биологический, смешанный), в числе которых обработка очага озонированным физиологическим раствором (ОФР).

Ряд авторов опубликовали результаты исследований о том, как ОФР влияет на микобактерии туберкулеза. Все эти исследования проводились в условиях *invitro*[4]

Цель работы: провести экспериментальное обоснование возможности применения озонированного физиологического раствора в лечении туберкулезного остеомиелита.

Материалы и методы:

С целью уточнения электрохимических процессов эксперимента оценена динамика физико-химических параметров (рН, окислительно-восстановительного потенциала, содержания растворенного кислорода) 0,9 % раствора хлорида натрия при его барботировании источником активных форм кислорода[10].

Использованные концентрации озона – 1000, 5000 и 10000 мкг/л. Уровень рН и окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) растворов определяли с помощью портативного рН-метра «HI-8314» (Румыния). Температурный градиент и содержание растворенного кислорода оценивали с применением оксигенометра «OxygenmeterATT-3010» (Тайвань).

Выявлено, что озонирование, не изменяя рН жидкой системы, дозозависимо стимулирует ее окислительный потенциал. Так, озонирование физиологического раствора вне зависимости от концентрации данной активной формы кислорода не способствует смещению кислотности среды. Четкая зависимость от дозы была выявлена при использовании различных насыщающих концентраций озона. Так, при увеличении действующей концентрации озона с 1000 до 5000 мкг/л прирост ОВП нарастает с $61,2 \pm 2,1$ до $139,0 \pm 3,8$ мВ (в 2,3 раза; $p < 0,05$), а при применении концентрации озона 10000 мкг/л – до $340,0 \pm 5,6$ мВ (в 5,56 раза по сравнению с концентрацией 1000 мкг/л, $p < 0,05$; в 2,45 раза – по отношению к концентрации 5000 мкг/л, $p < 0,05$). На наличие дозозависимости дополнительно указывает положительная корреляция высокой силы между концентрацией озона в потоке и ОВП ($r = + 0,98$).

С целью определения возможностей воздействия озонированного физиологического раствора натрия хлорида 0.9% на музейный штамм *MicobactriumB5* принято решение о проведении серии экспериментов по следующей технологии.

Стерильные тест-объекты (в количестве 50 штук) в чашке Петри заливали 20 мл суспензии тест-микобактерий штамма В5, содержащей 4.5×10^8 КОЕ/мл, и, равномерно смачивали, оставили тест-объекты в суспензии в закрытой чашке Петри. Через 30 минут тест-объекты, контаминированные бактериальной суспензией, стерильным пинцетом переносили в чашку Петри на поверхность двухслойной стерильной фильтровальной бумаги, покрыли их сверху стерильной бумагой и закрыли чашку. Тест объекты оставили на 10 минут с целью удаления избытка жидкости. Для фиксации микроорганизмов на лавсановых тест-объектах, последние перенесли на поверхность сухой стерильной фильтровальной бумаги в чашке Петри и сверху прикрыли стерильным листом фильтровальной бумаги, затем подсушили в термостате при 37С в течение 20 минут с приоткрытыми крышками.

Стерильным пинцетом погрузили контаминированные тест-штаммом тест-объекты в пробирки с раствором натрия хлорида 0.9%(объем раствора в пробирке должен рассчитываться с учетом соотношения 3,0 мл раствора на 1 тест-объект, т.е. для 3 тест-объектов необходимо 10,0 мл раствора) и проводили озонирование раствора газовой смесью O_3 в концентрации 10мг\литр, при этом фиксировали время начала опыта.

По истечении времени экспозиции равной 30 минутам, стерильным пинцетом извлекли тест-объект из раствора.

При помощи пинцета размещали тест-объекты на скошенной поверхности питательной среды Левенштейна-Йенсена и «Новая» (на скошенной площадке питательной среды в пробирке разместили 2 тест-объекта, что позволило без дополнительных затрат увеличить количество пробы достоверность результатов оценки эффективности озонированного раствора).

Засеянные пробирки закрыли ватно-марлевыми пробками, поместили в термостат в наклонном положении под углом 30° таким образом, чтобы посевной материал равномерно распределился по всей поверхности питательной среды, и инкубировали при 37 °С в течение 7 дней с ежедневным просмотром.

Учет результатов посевов провели визуально путем подсчета выросших колоний на самом тест-объекте и на поверхности питательной среды. Учет результатов посевов приведен на рисунке 1.

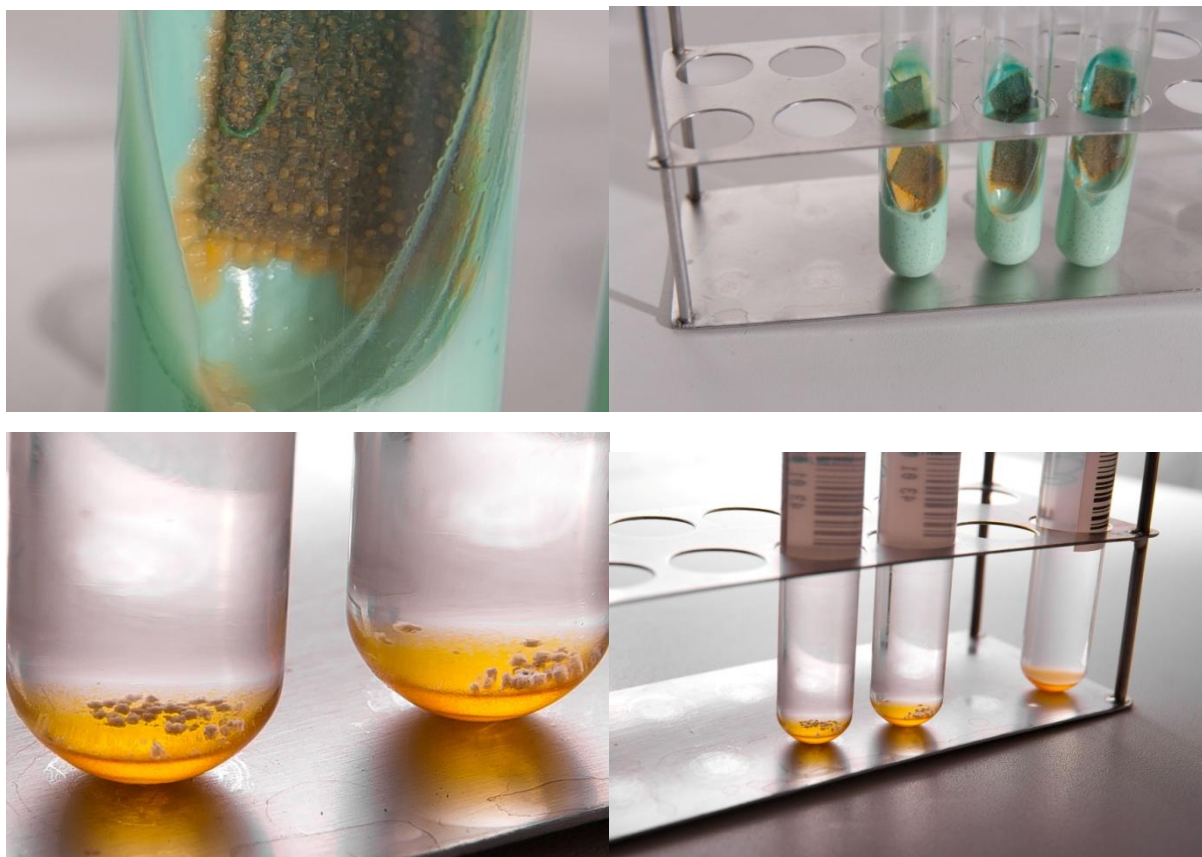


Рисунок 1 - Макрофотографии пробирок с питательными средами после инкубации в течении 7 суток в термостате при 37С 3-й серии экспериментов. Так же промывную жидкость в объеме 1 мл поместили в пробирку с жидкой средой инкубируемой в системе ВасТес с ежедневным просмотром опытного образца.

При учете результатов эксперимента на 7-е сутки получен рост на жидких и плотных питательных средах в тестовой и контрольной группах пробирок.

Наличие роста колоний тест-микобактерий на тест-объекте и на поверхности питательной среды показывает, что озонирование с данной экспозиции времени воздействия не обеспечивает бактериостатического и бактерицидного эффекта. В таблице 1 отображен учет 3-х серий эксперимента.

Таблица 1 - Учет результатов 3-й серии экспериментов

	Контроль	Опыт 1	Опыт 2
Новая	Рост на 3-4 сутки	Рост 5-6 сутки	Рост 5-6 сутки
Левинштейна-Йенсена	Рост на 3-4 сутки	Рост 5-6 сутки	Рост 5-6 сутки
ВасТес	Рост 1-е сутки	Рост на 5-6 сутки	Рост на 5-6 сутки

Вывод: учитывая полученные данные - целесообразность применения озоновых технологий при лечении туберкулезного спондилита представляется сомнительной.

От эксперимента на лабораторных животных с использованием лабораторных штаммов микобактерий туберкулеза принято решение отказаться.

Список литературы:

1. В.Б.Гаврилов, Т.В.Трухачева. «Кинетика инактивации микроорганизмов при ограниченной и избыточной подаче озона.» Материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Нижний Новгород, 1995. 56.
2. Вегеле, Л С. «Комплексное использование озона и повииаргола для лечения гнойных ран в травматологии и ортопедии.» Нижний Новгород, 2003. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.
3. Гейниц А.В., Толстых П.И., Дербенев В.А., Тамразова О.Б., Гусейнов А.И., Морозова Т.В., Гульмурадова Н.Т. «Фотодинамическая терапия гнойных ран и длительно не заживающих ран.» Москва, 2004. Пособие для врачей.
4. И.А.Белых, И.П.Высеканцев, А.М.Грек, А.В.Сакун, В.В.Марущенко. «Токсическое действие озона на микроорганизмы *Staphylococcus Aureus*, дрожжеподобные грибы *Candida Albicans* и споровые формы *Bacillus Subtilis*.» Современные проблемы токсикологии 2 3 2010 г.: 45-49.
5. Куклин, Д В. «Задняя инструментальная фиксация позвоночника при туберкулезном спондилите и остеомиелите тел позвонков.» Санкт-Петербург, 2005. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.
6. Л.В.Розова, А.И.Лапынин, Н.М.Клюшин, В.Е.Дегтяров. «Микробный пейзаж при хроническом остеомиелите в условиях чрескостного остеосинтеза.» Гений ортопедии № 1 2001: 81-84.
7. Н.А.Кувакина, С.И.Пылаева, С.П.Перетягин, А.А.Стручков. Способ оценки антибактериального действия озонированного физиологического раствора. Россия: Патент 2289812. 2006.
8. Н.В.Корнилов. Травматология и ортопедия. Ред. Н.В.Корнилов. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2011.